

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química**

Fernanda Antonia Pereira

**Estudo da interação do As(III) com modelo
“zinc finger” da proteína NCp7 HIV-1
e complexos de Bi(III) e Sb(III) com
ligantes contendo 2-mercapto-imidazol.**

Belo Horizonte

2010

UFMG-ICEx/DQ 841^a
D.482^a

Fernanda Antonia Pereira

**Estudo da interação do As(III) com modelo
“zinc finger” da proteína NCp7 HIV-1
e complexos de Bi(III) e Sb(III) com
ligantes contendo 2-mercapto-imidazol.**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química
do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal
de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em Química – Química Inorgânica.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Belo Horizonte

2010

P436e
2010
D
Pereira, Fernanda Antonia,
Estudo da interação do As(III) com modelo "zinc finger" da proteína NCp7 HIV-1 e complexos de Bi(III) e Sb(III) com ligantes contendo 2-mercapto-imidazol /
Fernanda Antonia Pereira. 2010.

xi, 92 f. : il.

Orientadora: Cynthia Peres Demicheli.

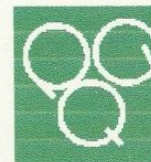
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1.Química inorgânica - Teses 2.Dedos de zinco - Teses 3.Complexos de As, Bi e Sb - Teses 4.Glutationa - Teses I. Demicheli, Cynthia Peres, Orientadora. II. Título.

CDU 043



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3409-5732
FAX: 031 - 3409-5711
E-MAIL: pgquimic@qui.ufmg.br



**"Estudo da Interação do As(III) com modelo "zinc finger" da proteína Ncp7
HIV-1 e complexos de Bi(III) e Sb(III) com ligantes contendo 2-mercapto-
imidazol"**

Fernanda Antonia Pereira

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Cynthia Peres Demicheli - Orientadora
UFMG

Prof. Vito Modesto De Bellis
UFMG

Prof. Ana Lúcia Americano Barcelos Souza
UFMG

Belo Horizonte, 17 de dezembro de 2010.

Este trabalho foi desenvolvido sob
a orientação da Prof^a. Dr^a. Cynthia
Peres Demicheli

Dedico este trabalho à minha mãe,
Cleusa, que sempre acreditou
em mim, me apoiou de maneira
incondicional e criou a mim e meus
irmãos com esforço e dignidade.

Agradecimentos

Toda Honra e Glória ao Deus Único, Vivo e Salvador Jesus Cristo ! Este trabalho em toda sua totalidade se dá a Ele.

Agradeço por fazer de sua Força minha força. “Tudo posso Naquele que me fortalece” [Fp 4:13]. “Se Deus é por nós, quem será contra nós?” [Rom 8:31]

O Senhor é meu Pastor;

Nada me faltará.

Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas,

Refrigera a minha alma. Guia-me pelas veredas da justiça,

Por amor de seu nome.

Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte,

não temeria mal algum , porque tu estás comigo;

a tua vara e teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença de meus inimigos.

Unges minha cabeça com óleo;

O meu cálice trasborda.

Certamente que a bondade e o amor me seguirão todos os dias da minha vida,

E habitarei na casa do Senhor para sempre.

Salmo 23

Agradeço a Deus as pessoas que Ele levantou para me ajudar,

à minha família, especialmente minha mãe Cleusa, pelo amor e apoio incondicional, por todos seus esforços e aos meus irmãos Flávia e Frederico.

a Dra. Juliana Lobato e Dr. Rodrigo da Cunha, por serem para mim o exemplo de ética profissional a ser seguido.

aos amigos Ligiane, Rogério, Bruno e Darliane pela amizade verdadeira.

ao Herr Professor Jochen Junker für Ihre Freundschaft und Beispiel wie Chemiker.

ao DCE da UFMG, em especial, Magnum Ferreira.

Meu Senhor, “Sabemos que todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam a Deus...” [Rom 8:28]

e a Ti glorifico por isso!

Resumo

A ejeção do zinco promovida pela sua competição com outra espécie metálica pelo sítio de coordenação da proteína é tida como uma estratégia de inativação da proteína podendo possivelmente ser aplicada para síntese de novos fármacos mais eficazes. O estudo da interação do As(III) com modelo de peptídeo dedo de zinco CCHC da proteína NCp7 de HIV-1 foi realizado utilizando-se as técnicas espectroscópicas de fluorescência e dicroísmo circular. Esse estudo permitiu uma melhor compreensão sobre a habilidade do As(III) de promover a ejeção do Zn e o papel da glutatona como biomolécula facilitadora na ejeção do zinco. O exato mecanismo ainda não é conhecido, mas os dados de fluorescência e dicroísmo circular obtidos nos mostraram a importância da participação da glutatona no sistema formado. A competição entre As(III) e Zn(II) foi avaliada em diferentes pHs em tampão fosfato.

Foram sintetizados compostos de Sb(III) e Bi(III) com os ligantes 2-mercapto-imidazol e 2-mercapto-benzimidazol. Os complexos envolvendo tais ligantes conservam como característica a coordenação da espécie metálica com S de grupo tiol e N de imidazol, assim como ocorre em domínios dedos de zinco.

Obtivemos como resultados das sínteses, cinco complexos inéditos, $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$. A caracterização físico-química desses complexos foi feita por RMN, espectroscopias FTIR e UV-Vis, análises elementar (CHN), condutimetria e termogravimetria. Foram obtidos cristais de quatro dos cinco compostos sintetizados, não obtendo cristais apenas para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$. Estudos de difração de raios X estão em andamento.

Abstract

The ejection of zinc from its coordination site in Zn-finger protein can be promoted by other metal species through competitive binding. This is considered as a promising strategy to inactivate the Zn-finger protein and for the design of new and more efficient drugs. A study of the As(III) interaction with the CCHC zinc finger domain of the NCp7 protein of HIV-1 has been carried out using the fluorescence and circular dichroism spectroscopies. This study allowed a better understanding of the ability of As(III) to promote Zn ejection and brought new insights into the role of glutathione as a biomolecule that can facilitate the ejection of Zn. The exactly mechanism is not yet known, but the fluorescence and circular dichroism data shows the importance of the participation of glutathione in the system formed. The competition between As(III) and Zn(II) was evaluated in phosphate buffers of different pHs.

Sb(III) and Bi(III) compounds with 2-mercapto-imidazole- and 2-mercapto-benzimidazole-type ligands have been synthesized. These complexes involve coordination of the metal specie with the S-atom from thiol group and the N-atom from imidazole, just like occurs in the zinc finger domains.

Five new complexes, $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ and $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$ were successfully obtained. Physico-chemical characterization was performed using NMR, FTIR and UV-vis spectroscopies, elemental analyses, conductimetric analyses and thermogravimetric analyses. Four crystals were also obtained from these complexes, except for the $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ complex. X-Ray diffraction analyses of these crystals are in course.

Lista de Figuras

Figura 1.	Estruturas representativas para o Tartar Emético (a), Pentostan (b) e Glucantime (c).	04
Figura 2.	Estruturas representativas para Zn-Finger de HIV-1 NCp7, PARP e GATA-1, respectivamente.	08
Figura 3.	Estruturas para ADA, NOBA e DIBA, respectivamente.	09
Figura 4.	Espectro UV-vis dos complexos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2$, F1, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$, B1v, $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$, B1a, e do ligante 2-mercapto-benzimidazol na região de 400 a 290 nm em DMSO.	21
Figura 5.	Espectro UV-vis dos complexos de $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, F4, e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, B4, e do ligante 2-mercapto-imidazol na região de 400 a 290 nm em DMSO.	22
Figura 6.	Análise termogravimétrica do complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$	23
Figura 7.	Análise termogravimétrica do complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$.	24
Figura 8.	Análise termogravimétrica do complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.	24
Figura 9.	Análise termogravimétrica do complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$.	25
Figura 10.	Análise termogravimétrica do complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$	25
Figura 11.	Estruturas com hidrogênios destacados para o ligante Bzmiz, e os complexos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1), $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v) e $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).	26
Figura 12.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.	28
Figura 13.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).	29
Figura 14.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).	29
Figura 15.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).	30
Figura 16.	Estruturas representativas com carbonos numerados para Bzmiz, F1, B1v e B1a.	31
Figura 17.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para ligante 2-mercapto-imidazol, Bzmiz.	32
Figura 18.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).	33
Figura 19.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).	33
Figura 20.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para o $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).	34
Figura 21.	Espectro de RMN de carbono em d6-acetona para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.	34

Figura 22.	Espectro de RMN de carbono em d6-acetona para o $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).	35
Figura 23.	Espectro de RMN de carbono em d6-acetona para o $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).	35
Figura 24.	Espectro de RMN de carbono em d6-acetona para o $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).	36
Figura 25.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para o ligante 2-mercaptop-benzimidazol, Bzmiz	36
Figura 26.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).	37
Figura 27.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).	37
Figura 28.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para o $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot \text{H}_2\text{O}$, (B1a).	38
Figura 29.	Estruturas representativas com hidrogênios destacados para Miz, $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4) e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).	39
Figura 30.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para o ligante 2-mercaptopimidazol, Miz.	41
Figura 31.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).	41
Figura 32.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).	42
Figura 33.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-acetona para 2-mercaptopimidazol, Miz.	42
Figura 34.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-acetona para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).	43
Figura 35.	Espectro de RMN de hidrogênio em d6-acetona para $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).	43
Figura 36.	Estruturas com carbonos numerados para Miz, F4 e B4.	44
Figura 37.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para o ligante 2-mercaptopimidazol, Miz.	45
Figura 38.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).	45
Figura 39.	Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).	46
Figura 40.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para o ligante 2-mercaptopimidazol, Miz.	46
Figura 41.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).	47
Figura 42.	Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).	47
Figura 43.	Representações moleculares propostas para os compostos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$ respectivamente.	49
Figura 44.	Tautomerismo para os ligantes Bzmiz e Miz respectivamente.	51

Figura 45.	Espectro de IV para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, (Bzmiz)	52
Figura 46.	Espectro de IV para o ligante 2-mercapto-imidazol, (Miz).	53
Figura 47.	Espectro de IV para o complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).	53
Figura 48.	Espectro de IV para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).	54
Figura 49.	Espectro de IV para o complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).	54
Figura 50.	Espectro de IV para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).	55
Figura 51.	Espectro de IV para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).	55
Figura 52.	Espectro de DC para Zn-Peptídeo $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; As-Peptídeo $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L e ZnF com adição de [EDTA] $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.	56
Figura 53.	Sequência inteira da proteína nucleocapsídica HIV-1 NCp7, com o triptofano destacado em negrito.	57
Figura 54.	Fluorescência da titulação de uma solução de ZnF com As (III) em tampão fosfato pH 6,0; [ZnF] $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; $\lambda_{\text{exc}} = 280$ nm ; $\lambda_{\text{em}} = 360$ nm .	58
Figura 55.	Fluorescência da titulação de uma solução de ZnF com As (III) em diferentes valores de pH; de tampão fosfato; [ZnF] $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; [GSH] $1,94 \times 10^{-3}$ mol/L; $\lambda_{\text{exc}} = 280$ nm ; $\lambda_{\text{em}} = 360$ nm.	59
Figura 56.	Proposta de mecanismo de coordenação do Zn^{2+} com domínio CCHC.	61
Figura 57.	Fluorescência da titulação de uma solução de ZnF com As (III) em diferentes valores de pH de tampão fosfato; com adição posterior de [GSH] $1,94 \times 10^{-3}$. [ZnF] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; $\lambda_{\text{exc}} = 280$ nm ; $\lambda_{\text{em}} = 360$ nm.	61

Lista de Tabelas

Tabela 1. Resultados para os testes de solubilidade dos complexos em 25°C --- -----	18
Tabela 2. Valores em μS para condutimetria dos compostos analisados -----	19
Tabela 3. Valores obtidos no UV-vis para os ligantes e complexos analisados -- -----	20
Tabela 4. Valores obtidos e calculados na termogravimetria dos complexos ----- -----	23
Tabela 5. Dados experimentais e teóricos de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para Bzmiz, F1, B1v e B1a -----	27
Tabela 6. Dados experimentais e teóricos de RMN de carbono para o ligante Bzmiz e e os complexos F1, B1v e B1a em d6-DMSO e d6-acetona -----	31
Tabela 7. Dados experimentais e teóricos de RMN de hidrogênio para Miz, F4 e B4 em d6-DMSO e d6-acetona -----	39
Tabela 8. Dados experimentais de RMN de carbono em d6-DMSO para Miz, F4 e B4 -----	44
Tabela 9. Valores percentuais de C, H e N, respectivamente, para os complexos sintetizados. Em parênteses o valor teórico calculado -----	48
Tabela 10. Atribuições de bandas de absorção de IV de maior importância para os ligantes e complexos -----	50
Tabela 11. Valores para fluorescência inicial em adição simultânea ou não de ZnF e GSH em diversos valores de pH para o tampão fosfato -----	62

Lista de abreviações e símbolos

(ζ) deslocamento químico

(ϵ) absorvidade molar

(μ) microlitros

(μ S) micro siemens

(AsF, As-Finger, As-Pep, As-Peptideo) dedo de arsênio para HIV-1 NCp7

(ACN) acetonitrila

(ADA) azodicarbonamido

(AIDS) Acquired immunodeficiency syndrome, do inglês. Síndrome da imunodeficiência adquirida

(BiCl(Bzmiz). CH₃OH , BiCl(Bzmiz) e B1v): cloro-(2-mercapto-benzimidazol) bismuto(III)

(BiCl₂(Bzmiz). 2H₂O, BiCl₂(Bzmiz) e B1a): dicloro-(2-mercapto-benzimidazol) bismuto (III) dihidratado

(BiCl(Miz) e B4): cloro-bis(2-mercapto-imidazol) bismuto (III)

(Bzmiz) 2-mercapto-benzimidazol

(CCCC) zinc finger motivo cisteína – cisteína – cisteína - cisteína

(CCHC) zinc finger motivo cisteína – cisteína – histidina - cisteína

(CCHH) zinc finger motivo cisteína – cisteína – histidina - histidina

(CHN) análise elementar para Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio

(Cys, C) cisteína

(DC) dicroísmo circular

(DIBAS) disulfeto-benzamidas

(DMF) dimetil formamida

(DMSO) dimetilsulfóxido

(DNA) Desoxyribonucleic acid, do inglês. Ácido desoxirribonucleico.

(EDTA) Ethylenediamine tetraacetic acid, do inglês. Ácido etilendiamino tetraacético

(ESI-MS) espectroscopia de massas

(FTIR) transformada de Fourier no infravermelho

(GSH) glutationa

(Gly, G) glicina

(His, H) Histidina

(HIV) human immunodeficiency virus, do inglês. Vírus da imunodeficiência humana.

(IV) espectroscopia na região do infravermelho

(Miz) 2-mercapto-imidazol

(NCp7) proteína nucleocapsídica 7

(NOBA) 3-nitroso-benzamida

(RNA) Ribonucleic acid, do inglês. Ácido ribonucléico

(SbCl(Bzmiz)₂.CH₃OH, Sb(Bzmiz)₂Cl e F1): cloro-bis(2-mercapto-benzimidazol) antimônio(III)

(SbCl(Miz) e F4): cloro-bis(2-mercapto-imidazol) antimônio (III)

(TG) Termogravimetria

(THF) tetrahidrofurano

(TMS) tetrametilsilano

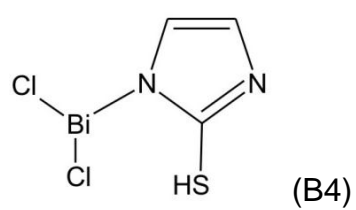
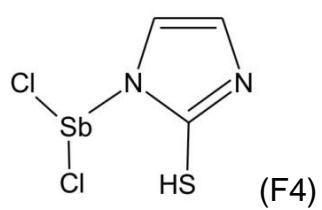
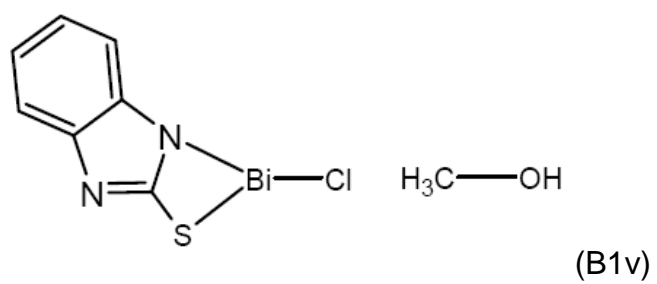
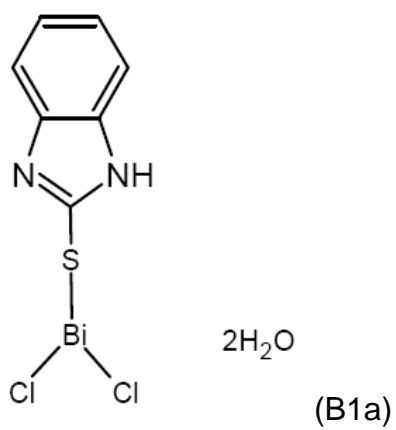
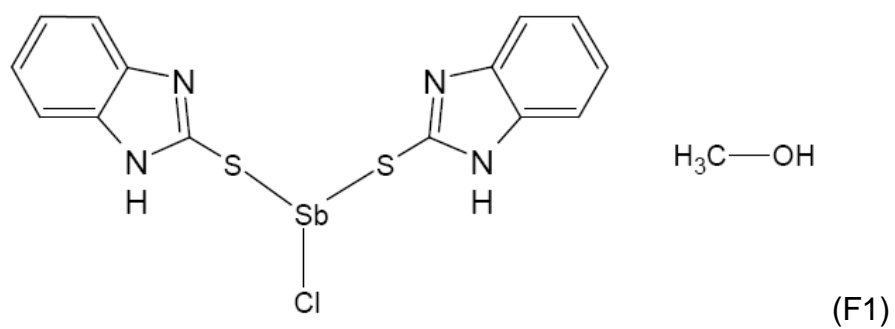
(Trp, W) triptofano

([T(SH)₂]) tripanotiona

(UV-vis) espectroscopia na região do ultravioleta visível

(ZnF, Zn-Finger, Zn-Pep, Zn-Peptídeo) proteína dedo de zinco, no caso, para HIV-1 NCp7

Representações dos complexos sintetizados:



Sumário

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	vi
Lista de Abreviações e símbolos	vii
Representações dos complexos sintetizados	ix

1. Introdução

I Antimônio	02
I.2 Atividades biológicas do antimônio	02
II Arsênio	04
II.2 Atividades biológicas do arsênio	05
III Bismuto	06
III.2 Atividades biológicas do bismuto	07
IV Proteínas dedo de zinco	07

2. Objetivos

12

3. Materiais e Métodos

Reagentes e solventes utilizados	13
Equipamentos	13
Síntese dos complexos	14
1) Síntese de $SbCl(Bzmiz)_2$	14
2) Síntese de $SbCl(Miz)$	14
3) Síntese de $BiCl(Bzmiz)$ e $BiCl_2(Bzmiz)$	14
4) Síntese de $BiCl_2(Miz)$	15
Testes de cristalização	15
Formação da estrutura dos dedos de zinco HIV-1 NCp7	15
Preparo de soluções	16
1) Solução de Glutaciona	16
2) Soluções de tampão fosfato	16
3) Soluções de As(III)	16

Ensaio de dicroísmo circular -----	16
Ensaio de fluorescência -----	16
4. Resultados e Discussões -----	17
I. Solubilidades -----	18
II. Condutimetria -----	19
III. Espectroscopia na região do ultravioleta -----	19
IV. Termogravimetria -----	22
V. Ressonância Magnética Nuclear -----	26
VI. Análise elementar -----	48
VII. Espectroscopia na região do infravermelho -----	49
VIII. Espectroscopia de dicroísmo circular -----	56
IX. Espectroscopia de fluorescência -----	57
5. Conclusões -----	62
6. Referências Bibliográficas -----	64
7. Anexos -----	69
Espectros de RMN -----	70
Espectros de Fluorescência vs Tempo -----	84
8. Trabalho apresentado em congresso -----	92

Introdução

I. Antimônio:

O nome provém do latim referindo-se a sua “tendência em se combinar rapidamente”, elemento descoberto e nomeado pelo monge beneditino Basílio Valentino em 1604, embora haja conhecimento de sua existência em tempos antecedentes a Cristo. Possui três formas alotrópicas: cinza metálica (forma estável em temperatura ambiente), amarela e negra. Há uma quarta forma, conhecida como “antimônio explosivo” de estrutura desconhecida e que se converte violentamente na forma cinza estável quando submetido a atritos. ^(1,2)

Semi-metal pertencente ao grupo 15 da tabela periódica de número atômico 51 e configuração eletrônica no estado fundamental $[\text{Kr}] 4d^{10} 5s^2 5p^3$. Seu raio covalente é 1,41 Å e suas energias são 834, 1590 e 2440 KJ mol⁻¹ para energias de ionização primeira, segunda e terceira, respectivamente. A eletronegatividade de Pauling é 1,9. ⁽³⁾

Suas valências com halogênios e enxofre são 3 e 5. A tendência do par de elétrons do orbital s é ficar inerte de acordo com aumento da massa atômica, perdendo somente os elétrons do orbital p para o Nox +3. Por possuir cinco elétrons na camada de valência o seu Nox máximo é +5. ⁽³⁾

Tanto para complexos de antimônio (III) com número de coordenação três quanto para os complexos de antimônio (V) com número de coordenação cinco a hibridação é sp^3d . Em casos de ligantes volumosos com Sb(III) temos compostos com geometria trigonal plana e para compostos com Sb(V) a geometria pode ser bipiramidal trigonal com hibridação ou octaédricos, sendo mais comum os hexacoordenados por questões de estabilidade e interações elétron-elétron. ⁽⁴⁾

I.2. Atividades biológicas do Antimônio:

A química de bio-coordenação do antimônio e do bismuto tem sido muito investigada pelo uso histórico destes metais na medicina. Ambos os compostos, além do arsênio, pertencem ao mesmo grupo da tabela periódica. O antimônio é empregado desde a antiguidade em tratamentos medicinais e no século passado começou a ser usado no tratamento de doenças parasitárias como leishmaniose e esquistossomose. A leishmaniose é uma doença parasitária endêmica em 88 países do novo mundo e em 66 do velho mundo e afetam significativamente populações pobres. ^(5,6)

No começo do século Gaspar Vianna, pesquisador brasileiro pioneiro no tratamento das leishmanioses, reportou a eficácia do tartarato de potássio de antimônio (III) para o tratamento de leishmaniose muco-cutâneas. Essa atividade foi confirmada para leishmaniose visceral na Europa e África. Complexos de antimônio menos tóxicos, os pentavalentes, foram introduzidos na terapia de leishmanioses por volta de 1940. ^(6,7)

Os complexos de antimônio pentavalente como antimoniato de meglumina (Glucantime) e estibogluconato de sódio (SSG) são usados há muitos anos como drogas leishmanicidas. Apesar de diversas limitações por causa de efeitos colaterais e a necessidade de administração diária, os antimoniais ainda são as drogas de primeira linha contra leishmanias. O metabolismo e mecanismos de ação ainda são investigados e não é claro se a forma ativa final da espécie metálica é o estado pentavalente ou trivalente, no entanto estudos recentes sugerem que Sb(V) age como uma pró-droga a qual é reduzida para a forma mais ativa e mais tóxica, Sb(III), *in vivo*. Acredita-se que o antimônio se liga a tióis, os quais agem como o agente redutor na conversão.⁽⁸⁾

Na figura 1 a seguir podemos observar representações para alguns fármacos utilizados como leishmanicidas.

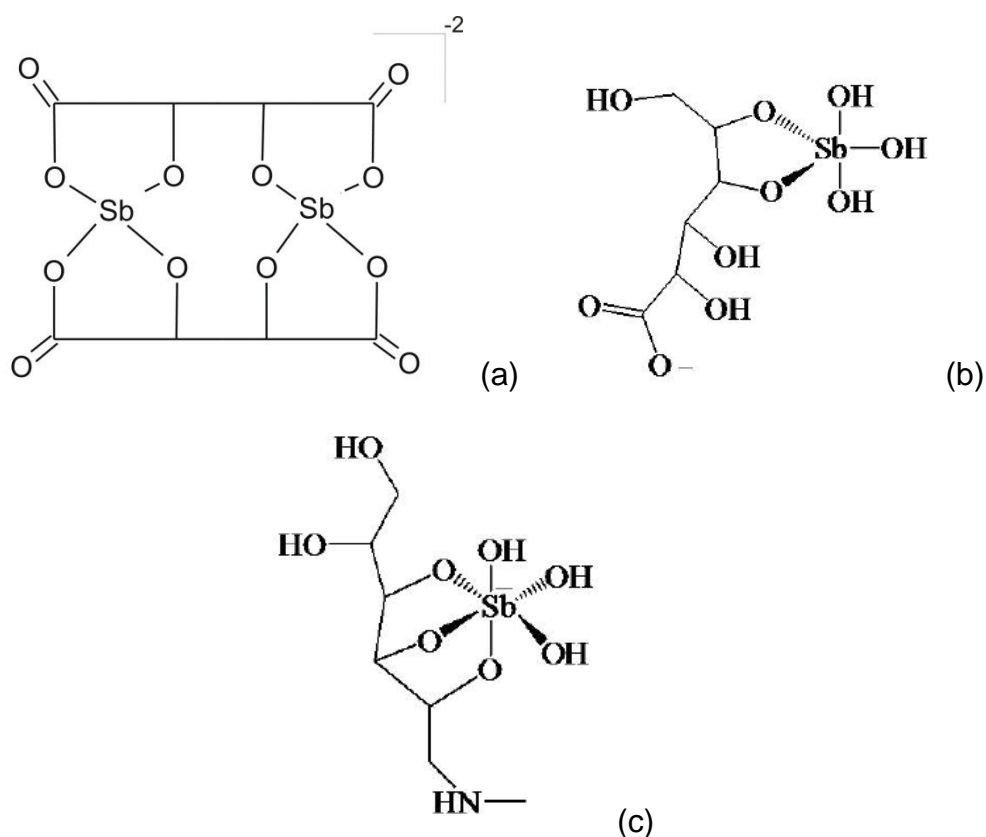


Figura 1. Estruturas representativas para o Tartar Emético (a), Pentostan (b) e Glucantime (c).

Há quatro diferentes tióis em destaque: glutationa (GSH), cisteína (Cys), tripanotona (T(SH)₂) e cisteína-glicina (Cys-Gly), onde T(SH)₂ e Cys-Gly são os tióis predominantes no parasita *Leishmania* e nos lisossomas respectivamente.⁽⁹⁾ Foi reportado que Cys, Cys-Gly e T(SH)₂ promovem a redução do Sb(V) em Sb(III) a 37°C. A espécie Sb(III) forma complexos estáveis com glutationa e tripanotona na estequiometria Sb:ligante de 1:3 e 1:1 nesta ordem.^(9,10)

Algumas referências sugerem a existência de uma atividade leishmanicida intrínseca no Sb(V), o qual forma um complexo com a adenosina. Complexos Sb-ribonucleosídeo poderão agir como inibidores de purina na leishmania ou penetrar dentro do parasita e interferir no metabolismo dos nucleosídeos purinos. ^(11,8)

Tanto Sb(V) quanto Sb(III) formam complexos com riboses de nucleotídeos. Isso indica a possibilidade de formação de complexos antimônio-nucleotídeo *in vivo*. Como já dito acima, propõe-se que complexos de Sb(V) funcionem como uma pró-droga biorreduzida a Sb(III), a forma ativa da droga. ⁽⁹⁾

Foi demonstrado que a glutatona é capaz de reduzir o Sb(V) a Sb(III) na ausência de enzimas e que essa redução é favorecida em pH ácido e com aumento da temperatura. ⁽¹³⁾ A glutatona na presença de enzimas como glutaredoxina e LmACR2, as quais são capazes de reduzir tanto o Sb(V) quanto o As(V) às suas respectivas espécies trivalentes, vem demonstrando maior eficiência para o antimônio do que a tripanotona. ^(12,14)

Quanto à tripanotona, é o mais importante tiol em espécies leishmanias e está envolvido em manutenção do potencial redox celular junto com a tripanotona redutase. De maneira surpreendente, a tripanotona reduz rapidamente a espécie Sb(V) a Sb(III), principalmente em condições ácidas e temperatura ligeiramente alta. Similar a coordenação de Sb(III)/As(III) na ArsA ATPase, o SbT(S)₂ pode ser considerado um intermediário que deve permitir uma transferência rápida para outras espécies doadoras. A forte ligação entre o hidrogênio da molécula de água e o oxigênio de carboxila estabiliza a estrutura do complexo SbT(S)₂. Experimentos de RMN e ESI-MS confirmam a formação de um complexo ternário com N-acetil-cisteína ou glutatona, sugerindo que o complexo inicial (H₂O)SbT(S)₂ forma (L)SbT(S)₂ onde L pode ser glutatona ou uma cisteína. ^(12, 14)

Tanto SbT(S)₂ quanto complexos Sb(GSH) e Sb(III)-ArsA ATPase podem agir como intermediários intracelulares e ligantes como água ou cloreto podem ser prontamente substituídos por um enxofre de um ligante tiolato, resultando em um complexo ternário. A fácil troca de ligação de Sb(III) e tiolatos devem ser cruciais para seu transporte intracelular e ser uma característica comum no tráfico de metais através de diferentes moléculas em células. Provavelmente deve ajudar a estabilizar mecanismos moleculares subadjacentes de atividades antimicrobianas de Sb e Bi de um modo mais compreensivo e eficiente que poderá contribuir para produzir um melhor planejamento de metalo-drogas e novos agentes com diversos propósitos terapêuticos. ⁽¹²⁾

II. Arsênio:

Arsênio é um semi-metal cinza cristalino caracterizado por número atômico 33 e propriedades químicas semelhantes as do fósforo, elemento também do grupo 15 da tabela periódica. Possui três formas alotrópicas: a cinza (mais estável), a amarela no estado gasoso (na verdade são moléculas de As₄, semelhantes ao fósforo branco) e a negra (a menos conhecida e mais instável).^(1,3)

Sua configuração eletrônica no estado fundamental é [Ar] 3d¹⁰ 4s² 4p³, seu raio covalente é 1,21 Å e suas energias são 947, 1950 e 2732 KJ mol⁻¹ para energias de ionização primeira, segunda e terceira, respectivamente. A eletronegatividade de Pauling é 2,0. Seus estados de valência são: -3, 0, +3 e +5.⁽³⁾

A química do arsênio tem comportamento similar a do antimônio, elemento do mesmo grupo e que fica abaixo dele na tabela periódica. Assim como o antimônio, as espécies mais comuns, principalmente em óxidos e compostos complexos são as As(V) e As(III). Para os compostos complexos formados é comum um comportamento similar aos compostos obtidos para Sb(III) e Sb(V).⁽¹²⁾

II.2. Atividades biológicas do Arsênio:

Uma exposição crônica ao arsênio pode ocorrer mesmo em pequenas concentrações, dependendo da forma química a qual ele é absorvido pelo indivíduo. A toxicidade do arsênio pode causar diversos problemas de saúde, dentre eles conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso central e vascular periférico, câncer de pele, gangrena nos membros, anemia e problemas digestivos (náuseas, vômitos). A toxicidade das espécies químicas decresce na seguinte ordem: compostos de As(III) inorgânico > compostos de As(V) inorgânico > compostos de As(III) orgânico > compostos de As(V) orgânico. O As(III) inorgânico é cerca de 60 vezes mais tóxico que o As(V) inorgânico e são 100 vezes mais tóxicas que as espécies orgânicas.⁽¹⁵⁾

O processo de desintoxicação ocorre nos rins e trata-se de uma metilação do arsênio inorgânico presente no corpo humano. Quando um indivíduo sofre uma contaminação com arsênio, aguda ou crônica, sua concentração é frequentemente monitorada pela determinação de arsênio total na urina. Se o arsênio é ingerido nas formas menos tóxicas, íon monometilarsônico ou íon dimetilarsínico, nenhum processo de metilação ou desmetilação parece ocorrer e essas formas são excretadas na urina sem mudança na estrutura.^(15,16)

Assim como o antimônio e o bismuto que sofrem redução da espécie pentavalente para a espécie trivalente, a redução do As(V) em As(III) ocorre de forma similar com compostos com grupo tiol como a L-cisteína e o tioglicerol. A biotransformação de substâncias inorgânicas de As(V) por redução à forma trivalente ocorre *in vivo* e uma posterior metilação vem sendo reconhecida como importante fator que contribui para seus efeitos biológicos.⁽¹⁶⁾

A toxicidade da espécie As(III) se dá através da interação com os grupos sulfidril de proteínas e inibição da enzima. O arsenito ao reagir *in vitro* com proteínas através dos grupos -SH inativam enzimas como a desidrogenase dihidrolipoil e tiolase, produzindo inibição da oxidação do piruvato e beta-oxidação de ácidos graxos. O As(III) interrompe vias metabólicas oxidativas e provoca alterações morfológicas na mitocôndria do fígado. ^(15,16)

Uma atividade biológica positiva do arsênio é no tratamento de leucemia. Atualmente o arsênio vem recebendo atenção mundial por apresentar atividade antitumoral em pacientes com leucemia promielocítica. O trióxido de arsênio, As₂O₃, promove a degradação de uma proteína oncológica responsável pelo crescimento de células APL, a PML-RAR α (uma proteína que contém ácido retinóico e zinc fingers com funções ainda não compreendidas que é encontrada em cerca de 98% dos pacientes com leucemia promielocítica). O exato mecanismo molecular a respeito da eficiência do trióxido de arsênio ainda não é claro. ⁽¹⁷⁾

Sabe-se que a ação biológica do ânion AsO₃³⁻ se dá através da sua interação com grupos tióis de cisteínas de proteínas. A ligação entre o As e proteínas PML e PML-RAR α em células foi estudada através de RMN, espectroscopia de massas e dicróismo celular. Foi sugerido diante dos resultados que o arsênio substitui o zinco inativando as proteínas. ⁽¹⁷⁾

A identificação da PML como um alvo direto de ação do As₂O₃ abre novas perspectivas no desenvolvimento de terapias para leucemia.

III. Bismuto:

Assim como o antimônio e o arsênio, o bismuto é um elemento pertencente ao grupo 15 da tabela periódica. Porém, diferente dos demais, é o único classificado como metal. Essa transição do caráter não metálico para metálico no percorrer do grupo de cima para baixo se dá claramente vinculada ao número atômico e a firmeza com que os elétrons estão presos. ⁽¹⁾

Bismuto é um metal denso, metálico e insípido. Foi descoberto por Valentino em 1450 e seu nome provém do alemão, "Weissmuth", massa branca. É encontrado na natureza normalmente nas formas de Bi₂O₃ e Bi₂S₃. Assim como a água, o bismuto tem comportamento anômalo, sendo uma das poucas substâncias a se expandir ao congelar. Além disso, bismuto é o elemento mais pesado a possuir isótopos estáveis, embora somente o ²⁰⁹Bi seja naturalmente encontrado. ^(1,2)

O número atômico do Bi é 83 e sua configuração eletrônica no estado fundamental é [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s² 6p³. Seu raio covalente é 1,52 Å e suas energias são 703, 1610 e 2467 KJ mol⁻¹ para energias de ionização primeira, segunda e terceira, respectivamente. A eletronegatividade de Pauling é 1,9. ⁽³⁾

Complexos de Bi(III) são mais comuns que Bi(V) e normalmente agem como ácido de Lewis. Antimônio e Arsênio por serem metalóides apresentam óxidos anfóteros enquanto que bismuto na qualidade de metal apresenta óxidos básicos.⁽³⁾

III.2. Atividades Biológicas do Bismuto:

Compostos de bismuto têm aplicações medicinais desde a antiguidade, principalmente em tratamentos gastrointestinais e são usados a mais de dois séculos no tratamento de *Helicobacter pylori*, microorganismo patogênico produtor de grandes quantidades de enzimas. Não se sabe claramente o mecanismo de ação entre compostos de bismuto e *H.pylori*.^(12,18)

Estruturas de agentes anti-úlceras de bismuto e interações de Bi(III) com proteínas e enzimas como a transferrina, lactoferrina e urease têm sido caracterizadas. Subssacilato de bismuto e citrato coloidal de bismuto são usados como drogas anti-úlceras por décadas e recentemente suas estruturas e de diversas drogas provenientes de complexos de salicilato de bismuto têm sido sintetizadas e caracterizadas por cristalografia de raios X.⁽¹²⁾

A inibição enzimática tem sido sugerida como um possível mecanismo de ação do bismuto no tratamento de úlceras e infecções provocadas por *H. pylori*. O Bi(III) se liga a grupos tióis das enzimas agindo como um inibidor não competitivo, de acordo com estudos cinéticos realizados.⁽¹²⁾

O bismuto liga-se fortemente a proteínas, como a transferrina e lactoferrina humanas. A lactoferrina está presente em quantidades significativas nas secreções do estômago de pacientes com gastrite. É sugerido que o bismuto possa substituir o ferro nessas proteínas interferindo no metabolismo da bactéria *H.pylori*. Além disso, assim como o antimônio, o bismuto tanto nas espécies Bi(III) quanto Bi(V) pode-se ligar a riboses de nucleotídeos.⁽¹²⁾

IV. Proteínas Dedos de Zinco:

Há várias categorias de reguladores transcricionais que reconhecem sequências específicas do DNA, um deles são as proteínas dedos de zinco, (ZnF). Nas proteínas dedos de zinco, o número de domínios de dedos de zinco assim como a sequência de aminoácidos é variável.

Os motivos dedos de zinco possuem um íon Zn(II) ligado em diferentes combinações de grupos tióis de resíduos cisteína e grupos imidazol de resíduos histidinas contidos em uma larga sequência de proteína. Os motivos dedo de zinco podem ser CCCC, CCHH ou CCHC, sendo Cys-Cys-Cys-Cys, Cys-Cys-His-His ou Cys-Cys-His-Cys, respectivamente. Em todos os tipos de motivos ZnF a geometria é tetraédrica e há no mínimo dois grupos -SH presentes mantendo a quelação com o Zn(II). É uma questão muito investigada e importante conhecer o número de tióis envolvidos na esfera de coordenação, ou seja, que participam da ligação. Essas informações poderão contribuir para

o planejamento de síntese de novos fármacos assim como na compreensão dos mecanismos de ação de metais que interagem neste sítio. ^(19,20,21)

Há proteínas que atuam como fatores de transcrição que possuem diversos motivos dedo de zinco. A espécie $Zn(II)$ não está diretamente envolvida na atividade ligante ao DNA, mas é essencial para a estabilidade da arquitetura $\beta\beta\alpha$ de domínios dedos de zinco. Ligados um após o outro os dedos de zinco, assim como dedos em uma mão, são posicionados de tal maneira que podem reconhecer os pares de bases ao longo da dupla hélice do DNA. Ou seja, a capacidade de se ligar ao DNA faz dos domínios ZnF proteínas ligantes funcionais que estão presentes em diversos organismos. ^(22,23,24)

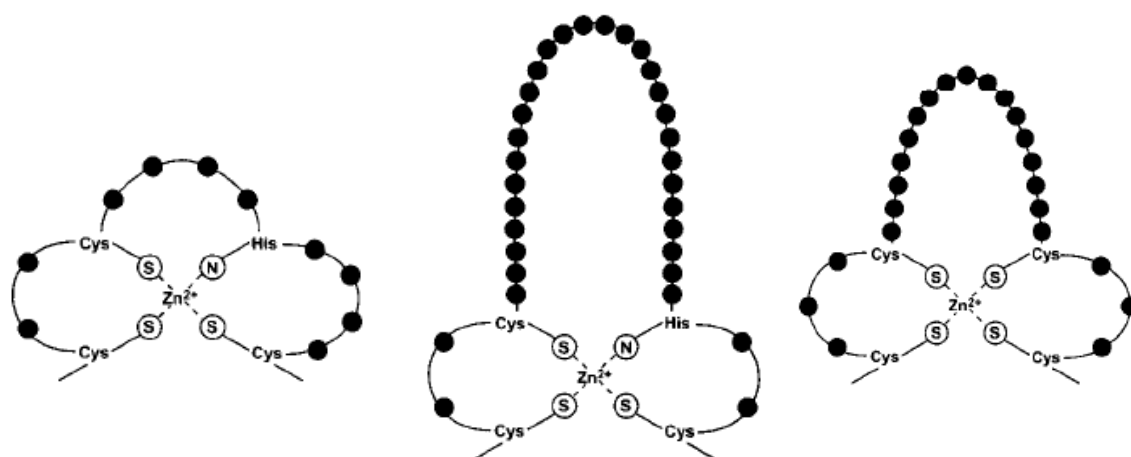


Figura 2. Estruturas representativas para Zn-Finger de HIV-1 NCp7, PARP e GATA-1, respectivamente.

Devido a grande variedade de seqüências de DNA há diversas funções que proteínas ZnF podem exercer com alta especificidade e afinidades incluindo uma larga variedade de fatores de transcrição eucarióticas. O tipo CCHH é o tipo mais comum de domínio ligante ao DNA no que se diz respeito à transcrição humana. ^(21,23,25,26)

Proteínas dedo de zinco executam diversas funções, sejam atuando em fatores de transcrição humana (CCHH), ou em retrovirais (CCHC) ou até mesmo funções catalíticas, receptoras do hormônio tireóide/esteróide, etc. Os agentes antivirais baseados em proteínas dedo de zinco para a proteína nucleocapsídica do HIV, NCp7, tornam-se uma atraente e real alternativa no desenvolvimento para fármacos sem a desvantagem de uma série de fortes efeitos colaterais dos medicamentos atuais no mercado. O atual tratamento para a infecção HIV-1 é com terapia a base de multidrogas utilizando potentes inibidores de transcriptase reversa e enzimas protease que atrasam o desenvolvimento de AIDS e a decorrente morte associada à infecção causada pelo HIV-1. Além disso, os atuais medicamentos empregados não têm garantias de sua eficiência e podem falhar por diversos motivos. É necessário o desenvolvimento de agentes antivirais mais efetivos e com alvos mais específicos e que não demonstrem resistência com as drogas já existentes,

podendo ser administradas em conjunto aumentando a eficiência dos atuais coquetéis. ^(23,27,28)

A concepção de novas drogas que tem como alvo os dedos de zinco estão em desenvolvimento como antivirais. Proteínas ZnF com motivos CCHC são necessários para a seleção e empacotamento do genoma do RNA viral além de serem implicados na multiplicidade de outros eventos envolvidos na infecção. Recentemente foi identificado uma série de compostos que tem a proteína NCp7 como alvo. Os compostos são ligantes polidentados os quais competem com o domínio CCHC pela complexação com o zinco, provocando sua ejeção no dedo de zinco. Conseqüentemente, os enxofres contidos nos resíduos cisteína sofrem oxidação e ocorre formação de ponte dissulfídica, ou seja, inativação das proteínas dedo de zinco. Dentre esses compostos estão o 3-nitroso-benzamida (NOBA), disulfeto-benzamidas (DIBAS), ditioheterocíclicos como o ditiano e carbonil azóicos como azodicarbonamido (ADA) dentre outros. Tais agentes têm inibido diversas cepas do vírus HIV que foram testadas, as quais contêm motivos dedos de zinco em sua estrutura, não sendo eficaz exceto em casos de spumaretrovirus, que não contém dedos de zinco. ^(27,28,29,30,31)

Atualmente um benzo-isotiazolona derivado de DIBA vem sendo utilizado em triagens clinicas nos Estados Unidos e um derivado de ADA tem sido avaliado clinicamente na Europa em pacientes com estágio avançado de AIDS. ^(27,31,32,33)

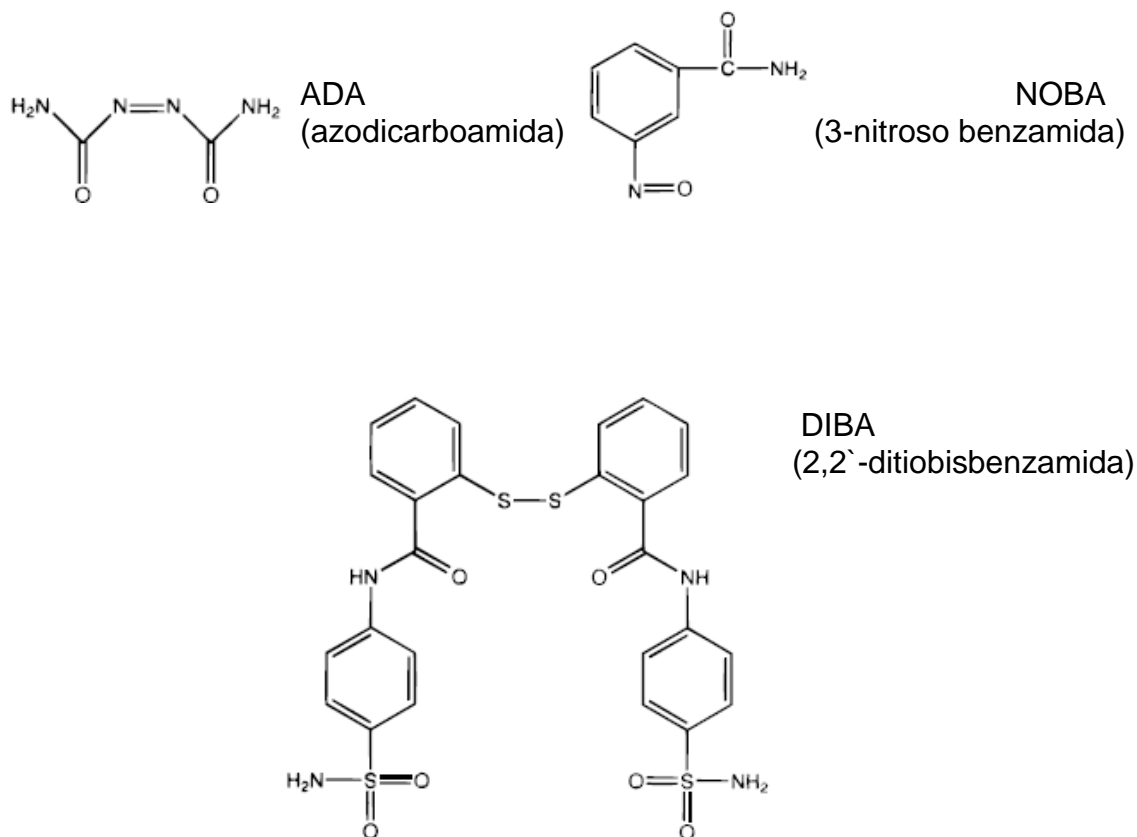


Figura 3. Estruturas para ADA, NOBA e DIBA, respectivamente.

Um fator de contenção no uso de proteínas nucleocapsídicas dedos de zinco como alvos de intervenção e tratamento para o HIV-1 é a questão da seletividade dos agentes. A presença de domínios dedo de zinco em proteínas celulares essenciais geram dúvidas sobre sua aplicação para inativar o vírus HIV. Como desenvolver agentes que atuem de forma específica nos dedos de zinco da proteína NCp7 sem afetar proteínas dedos de zinco de células saudáveis? ⁽²⁸⁾

São necessárias provas experimentais de que tais agentes antivirais possam atacar de forma seletiva motivos do dedo de zinco NCp7 e estabelecer uma base racional para tal seletividade. A seletividade de tais agentes depende de diversos fatores. Incluindo afinidade ligante, proximidade reativa do ligante, e propriedades redox suficientes para direcionar a reação. ^(28,30)

Além de compostos que utilizam como estratégia de inativação de proteínas dedo de zinco, a oxidação dos enxofres dos resíduos Cys participantes da coordenação do Zn(II), há também o uso de complexos. A inativação pode ser dada pela substituição do átomo de zinco por outro metal, causando a ejeção do zinco coordenado ao motivo, (no caso motivos CCHN para NCp7) através de competição entre os metais, visto que a perda do arranjo espacial com a mudança de coordenação compromete a ação da proteína dedo de zinco. Há registros de estudos realizados com compostos de antimônio para motivos dedo de zinco em NCp7, HIV, e de compostos de bismuto para motivos dedo de zinco GroES, da bactéria *Helicobacter pylori*, causadora de infecções intestinais. ^(18,30,34)

Portanto, desenvolvendo tal raciocínio o estudo de complexos envolvendo a competição entre metal/zinco na formação de biomoléculas metal-peptídeo torna-se um promissor meio de obtenção de novas drogas e tratamentos envolvendo motivos dedos de zinco como alvos.

Os ligantes utilizados neste trabalho para a síntese dos complexos são o 2-mercapto-imidazol e 2-mercaptobenzimidazol. A escolha de tais ligantes não se deu somente pelo fato de complexos metálicos desses ligantes demonstrarem atividade antitumoral, mas principalmente por terem como característica um grupo tiol e um imidazol. Isso faz com que os complexos sintetizados com esses ligantes tenham as mesmas características de sítios de coordenação que temos nos motivos dedos de zinco; ou seja, coordenação entre a espécie metálica com enxofre do grupo tiol e com nitrogênio do imidazol.

Objetivos:

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um estudo de interação do As(III) com modelos dedos de zinco da proteína nucleocapsídica do HIV-1 (NCp7) e avaliar a habilidade do As(III) em promover a ejeção do zinco. Em paralelo foi desenvolvido a síntese de complexos inéditos de Sb(III) e Bi(III) com ligantes contendo grupos tióis e imidazol, visando uma possível aplicação como fármacos no futuro. Por outro lado os complexos formados com os ligantes que contém grupo -SH e anel imidazol podem mimetizar a interação dos metais com os sítios da proteína. O arsênio pertence ao mesmo grupo periódico que o antimônio e bismuto, portanto esperam-se resultados similares para a interação de tais espécies trivalentes e a ejeção do zinco.

A interação já conhecida da glutathione com o antimônio, arsênio e bismuto aumenta a amplitude do estudo e abre a possibilidade de estudar a participação dessa biomolécula na promoção da ejeção do zinco por esses outros metais. ^(18,34)

Diversos métodos analíticos podem ser utilizados para o estudo da interação entre metais e os dedos de zinco. Através da espectroscopia de fluorescência podemos acompanhar a ejeção do zinco e a formação do complexo As-peptídeo. A técnica ESI-MS tem sido também muito utilizada para estudar a formação de complexos metálicos da proteína nucleocapsídica do HIV. ^(19,20,34)

A técnica de dicroísmo circular foi utilizada para estudar a formação do complexo As-peptídeo e as modificações estruturais da proteína. Ainda há muito a ser explorado nesse campo de pesquisa onde uma melhor compreensão do mecanismo de ação de proteínas que contém dedos de zinco pode levar a obtenção de fármacos mais eficazes.

II Objetivos específicos:

- Sintetizar complexos inéditos de Sb(III) e Bi(III) com ligantes 2-mercapto-benzimidazol e 2-mercapto-imidazol.
- Caracterizar e determinar as propriedades físico-químicas dos compostos inéditos obtidos através de espectroscopias na região do infravermelho, ultravioleta, termogravimetria, ponto de fusão, ressonância magnética nuclear e, em casos possíveis, difração de raios X.
- Estudar a interação do As(III) na presença e ausência de glutathione com dedos de zinco da proteínas NCp7 do HIV-1 através de espectroscopia de dicroísmo circular, fluorescência e a influência do pH.

Materiais e Métodos

- Reagentes e Solventes Utilizados:

O metanol é proveniente da Merck e Synth em grau P.A. O 2-mercapto-benzimidazol (Bzmiz), 2-mercapto-imidazol (Miz), óxido de cálcio, sulfato de cálcio anidro, cloreto de antimônio (III), cloreto de bismuto (III), acetato de zinco (II), cloreto de potássio, glutathiona, dióxido de arsênio (III), fosfato de sódio monobásico e hidróxido de sódio foram obtidos por Sigma-Aldrich, todos também P.A.

O peptídeo KGCWKCGKEGHQMKDCTE foi adquirido por Gen Script Corporation em grau de pureza maior que 98%.

- Equipamentos:

Todas as análises de caracterização dos complexos sintetizados neste trabalho foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

As análises elementares de C, H, N, foram realizadas em um Analisador CHN 2400 Perkin-Elmer.

As análises de ponto de fusão dos complexos sintetizados foram observadas em um aparelho digital modelo MQAPF-302.

Espectros de absorção UV-vis foram obtidos para os complexos sintetizados através de um espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta visível Hewlett Packard 1100 em cubetas de quartzo de 1 cm. O solvente utilizado foi dimetilsulfóxido, proveniente da Merck em grau P.A.

As curvas termogravimétricas foram obtidas em uma Termobalança Shimadzu TGA-5H. Foi utilizado atmosfera de ar com razão de fluxo de 50 mL/min. A razão de aquecimento foi 10°C e a temperatura final alcançada foi de 750 °C.

Espectros de absorção na região do infravermelho foram realizados para os complexos sintetizados utilizando um Espectrômetro Perkin Elmer FTIR spectrum GX, na região de 4000 a 400 cm⁻¹ em KBr.

Os espectros de Ressonância magnética nuclear de hidrogênio, de carbono e DEPT para os complexos sintetizados foram realizados em um espectrômetro Bruker AVANCE DRX de 400 MHz à temperatura ambiente e tendo como solvente dimetilsulfóxido deuterado e acetona deuterada e tetrametilsilano como referência.

As análises de condutimetria foram realizadas em um condutivímetro modelo Q405M, em dimetilsulfóxido e soluções dos complexos com concentração da ordem de 10⁻³ mol/L.

As análises de fluorescência e dicroísmo circular foram realizadas no Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas

Gerais. Para ensaios de soluções de dedo de zinco e titulações do mesmo com soluções de As (III), GSH e EDTA foram feitas com espectrômetro de dicróismo circular CHIRASCAN plus₁ utilizando espectrometria de dicróismo circular e espectrometria de fluorescência.

- Síntese dos complexos:

- 1) Síntese de $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2$, F1.

Pesou-se 0,552 g de 2-mercapto-benzimidazol ($3,68 \times 10^{-3}$ mol) que foi solubilizado em metanol previamente seco. A solução foi mantida sob agitação e refluxo durante uma hora e em seguida foi acrescentado à solução 0,200 g de SbCl_3 ($8,76 \times 10^{-4}$ mol) previamente pesado em atmosfera inerte de argônio e solubilizado em metanol seco.

Após o acréscimo de solução de cloreto de antimônio (III), imediatamente a solução final obteve a coloração amarelada. Em seguida, a solução teve o seu volume reduzido em rota-evaporador até a obtenção de óleo de cor amarela. Logo após a solução ser retirada do rota-evaporador pode-se observar precipitação imediata. O sólido foi lavado com éter, seco, devidamente pesado e utilizado para as análises necessárias. De acordo com a termogravimetria e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio indicou-se a formação de complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$.

- 2) Síntese de $\text{SbCl}(\text{Miz})$, F4.

Pesou-se 0,352 g de 2-mercapto-imidazol ($3,52 \times 10^{-3}$ mol) e o solubilizou em metanol previamente seco. A solução foi mantida sob agitação e refluxo por uma hora e em seguida foi acrescentado à solução 0,800 g de SbCl_3 ($3,50 \times 10^{-3}$ mol) previamente pesado em atmosfera inerte de argônio e solubilizado em metanol seco.

Após o acréscimo de solução de cloreto de antimônio (III) a solução final obteve a coloração amarelada. Em seguida, a solução teve o seu volume reduzido em rota-evaporador até a obtenção de óleo de cor amarelo queimado. Foi necessário esperar 15 dias para a precipitação, formando um sólido de cor caramelo. O sólido foi lavado com éter, seco e devidamente pesado. De acordo com a termogravimetria e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio indicou-se a formação de complexo $\text{SbCl}(\text{Miz}) \cdot \text{H}_2\text{O}$.

- 3) Síntese de $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$, B1v e B1a.

Pesou-se 0,700 g de 2-mercapto-benzimidazol ($4,67 \times 10^{-3}$ mol) que foi solubilizado em metanol previamente seco. A solução foi mantida sob agitação e refluxo por uma hora e em seguida foi acrescentado à solução 1 g de BiCl_3 ($3,17 \times 10^{-3}$ mol) solubilizados em metanol.

Após o acréscimo de solução de cloreto de bismuto (III), imediatamente a solução final obteve a coloração amarelo-alaranjada. Em seguida, a solução teve o seu volume reduzido em rota-evaporador até a obtenção de óleo de forte

cor laranja. Após duas semanas formou-se precipitados de tom vermelho-alaranjado e amarelo. Os sólidos foram lavados com éter, secos, devidamente pesados e utilizados para as análises necessárias. De acordo com a termogravimetria e análises elementares para carbono, hidrogênio e nitrogênio indicou-se a formação dos complexos $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})\cdot\text{CH}_3\text{OH}$ e $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, de cor vermelha e de cor amarela, respectivamente .

4) Síntese de $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, B4.

Pesou-se 0,250 g de 2-mercapto-imidazol ($2,5\times 10^{-3}$ mol) e os solubilizou em metanol previamente seco. A solução foi mantida sob agitação e refluxo por uma hora e em seguida foi acrescido à solução 0,710 g de BiCl_3 ($2,25\times 10^{-3}$ mol) dissolvidos em metanol.

Após o acréscimo de solução de cloreto de bismuto (III), imediatamente a solução final obteve a coloração amarela-alaranjada. Em seguida, a solução tem o seu volume reduzido em rota-evaporador até a obtenção de óleo de cor vermelho-alaranjado. Após duas semanas o óleo se precipitou formando um sólido de cor amarela. O sólido é lavado com éter, seco, devidamente pesado e utilizado para as análises necessárias. De acordo com a termogravimetria e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio indicou-se a formação de complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$.

5) Testes de cristalização:

Todos os complexos sintetizados e descritos acima tiveram testes de cristalização em:

(i) Solução do complexo mantida em Placas de Petri para evaporação de solvente, (ii) Síntese convencional mantida em béqueres de diversos tamanhos para evaporação de solvente, (iii) Difusão lenta em tubos do tipo H e (iv) Cristalização em solventes imiscíveis com formação de cristais na interface.

Para o complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2\cdot\text{CH}_3\text{OH}$ foram obtidos cristais com formato de losango e cor laranja a partir do método (i). Para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})\cdot\text{CH}_3\text{OH}$ foram obtidos cristais com formato de losango e cor vermelha através dos métodos (i), (ii) e (iii) e cristais amarelos e com formato de agulha para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ através dos métodos (i) e (ii). Para o complexo de $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$ foram obtidos cristais com formato de losango e de forte cor amarela através do método (iv) utilizando como solventes metanol/ dietil-éter.

As análises de difração de raios X para os complexos inéditos ainda estão em andamento.

6) Formação da estrutura dos dedos de zinco HIV-1 NCp7:

Preparou-se soluções de ZnF $1,0\times 10^{-3}$ mol/L através da incubação de 1mM de peptídeo com $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ em razão equimolar 1:2 por 2h com pH 6 e temperatura de 35°C sobre atmosfera de argônio.

- Preparo de soluções:

- 1) Solução de Glutaciona:

Foram pesados 30,7 mg de glutaciona e solubilizados em 0,8 mL de água deionizada. Em seguida o pH foi ajustado até pH 6. O volume final da solução foi completado com água deionizada até 1mL.

- 2) Soluções de tampão fosfato:

Foram pesados 14 mg de fosfato de sódio monohidratado ($1,0 \times 10^{-4}$ mol) e em seguida solubilizados em 5 mL de água deionizada.

O pH da solução deve ser ajustado com NaOH para o pH final desejado. Neste trabalho trabalhou-se com tampões fosfato com pH 5,5; 6,0; 6,5 e 7,0.

- 3) Soluções de As(III):

Foram preparadas soluções de As(III) com concentrações de $3,03 \times 10^{-3}$ e $3,03 \times 10^{-4}$ mol/L utilizando água deionizada e As_2O_3 .

- Ensaios de Dicroísmo Circular:

Foram realizados espectros de dicroísmo circular para a solução de ZnF (i), com adição de solução de arsênio trivalente (ii) e com adição de solução de EDTA (iii).

- Ensaios de Fluorescência:

Foram realizados ensaios de fluorescência onde titulou-se soluções de ZnF em tampão fosfato em diversos pH com soluções de As(III) $3,03 \times 10^{-3}$ e $3,03 \times 10^{-4}$ mol/L em presença e ausência de glutaciona 100mM.

Para cada ensaio foi acrescido quantidades de solução de As(III) para se obter razões de $[As^{3+}] / [ZnF]$ iguais a 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60. Os efeitos de diluição dos acréscimos foram corrigidos para se adquirir tais razões entre arsênio e dedo de zinco.

Resultados e Discussões

Os itens de I a VII são referentes a diversos métodos para caracterizações físico-químicas para os complexos sintetizados.

Os itens VIII e IX são referentes aos ensaios para solução de dedos de zinco da proteína NCp7, utilizando espectroscopia de dicroísmo circular e espectroscopia de fluorescência, respectivamente.

I. Solubilidades:

Foram feitos testes de solubilidades para os complexos sintetizados em temperatura ambiente com diversos solventes para que fossem realizados testes de cristalização mais eficazes. Os resultados estão apresentados na tabela 1 a seguir.

Tabela 1. Resultados para os testes de solubilidade dos complexos em 25°C.

solvente	Índice de polaridade⁽³⁵⁾	F1	F4	B1A	B1V	B4
H ₂ O	9.0	Dissocia	Insolúvel	Fica vermelho insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
DMSO	7.2	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
DMF	6.4	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
ACN	5.8	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Etanol	5.2	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Metanol	5.1	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Acetona	5.1	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Ac. de etila	4.4	Solúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
CCl ₄	4.1	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel	Solúvel	Insolúvel
THF	4.0	Solúvel	Insolúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
CH ₂ Cl ₂	3.1	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Éter	2.8	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Benzeno	2.7	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Tolueno	2.4	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Hexano	0	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel

Pode se observar uma predominância de insolubilidade para os complexos em solventes com índice de polaridade igual ou menor que 4.0 e solúvel em todos os casos para solventes com o índice de polaridade acima de 5.0.

II. Condutimetria:

O método condutimétrico foi usado para avaliar a presença de contra-íons nos compostos complexos sintetizados.

Foi medida a condutividade de soluções dos complexos de Sb e Bi com os ligantes Bzmiz e Miz colocando-os em uma célula com um par de eletrodos de platina. As medidas foram feitas em 27,3°C e o aparelho calibrado em 25°C.

A medição direta da condutividade é um procedimento muito sensível para a medição de concentrações iônicas e deve ser usada com cautela, pois qualquer espécie com carga elétrica presente numa solução, contribuirá para a condutância total. Foram preparadas soluções dos compostos em dimetilsulfóxido em concentrações $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L. Caso haja contra-íons Cl^- em razão equimolar de 1:1 na estrutura de algum complexo sintetizado, haverá então percepção de aproximadamente 100 μS na condutimetria da solução referente ao composto para cada Cl^- , e seu respectivo cátion, presentes.⁽³⁶⁾

Tabela 2. Valores em μS para condutimetria dos compostos analisados.

Composto	Concentração (mol/L)	Condutimetria (μS)
$\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$	$1,0 \times 10^{-3}$	20,4
$\text{SbCl}_2(\text{Miz})$	$1,0 \times 10^{-3}$	32,2
$\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$	$1,0 \times 10^{-3}$	4,64
$\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$1,0 \times 10^{-3}$	8,10
$\text{BiCl}_2(\text{Miz})$	$1,0 \times 10^{-3}$	6,57

Diante de tais resultados foi possível concluir a ausência de contra-íons Cl^- e carga nos complexos sintetizados.

III. Espectroscopia na região do ultravioleta:

Foram feitos espectros eletrônicos na região do ultravioleta visível para os ligantes Bzmiz e Miz e seus respectivos complexos utilizando-se como solvente DMSO em temperatura ambiente. A finalidade é confirmar a complexação dos ligantes com as espécies metálicas envolvidas. Determinou-se o comprimento de onda máximo para as bandas apresentadas respeitando-se a *Lei de Lambert-Beer* calculou-se a absorvidade molar (ϵ) de cada espécie. Foi utilizado para o experimento cubetas de quartzo com $l=1\text{cm}$.

A tabela 3 apresentada a seguir resume os dados obtidos através dos espectros de UV-vis, apresentados nas figuras 4 e 5.

Tabela 3. Valores obtidos no UV-vis para os ligantes e complexos analisados.

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)		ϵ ($10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)		Conc. (mol/L)
Bzmiz	299	325	0,678	0,709	$1,0 \times 10^{-3}$
F1	299	329	0,678	0,804	$1,0 \times 10^{-3}$
B1v	299	338	0,678	1,143	$1,0 \times 10^{-3}$
B1a	299	340	0,678	1,254	$1,0 \times 10^{-3}$
Miz	300	---	0,113	---	$1,0 \times 10^{-3}$
F4	300	323	0,643	0,488	$1,0 \times 10^{-3}$
B4	300	344	0,655	1,206	$1,0 \times 10^{-3}$

Devido ao DMSO ter um máximo de absorvância em 290 nm os valores para os compostos abaixo de 300 nm foram desconsiderados a fim de se descartar efeitos de absorção do solvente.

Podemos observar na figura 4 a seguir, a região UV dos espectros eletrônicos do ligante 2-mercapto-benzimidazol (Bzmiz), livre e coordenado, foi determinada por duas bandas, uma banda em torno de 299 nm e uma segunda banda em torno de 325 nm com intensidades próximas. A primeira banda para os complexos não apresentam grandes variações em relação ao $\lambda_{\text{máx}}$. A intensidade da segunda banda para os compostos complexos é maior do que para o ligante Bzmiz e a energia dessa banda está em concordância com transição $\pi \longrightarrow \pi^*$ dos grupos benzimidazol e é atribuída à transferência de carga intraligante.^(37,38)

O complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$, B1a, apresenta coordenação monodentada (C-S-Bi) enquanto o complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$, B1v, é bidentado (através de C-N-Bi e C-S-Bi). Note que a segunda banda apresenta-se menos intensa para o B1v do que para B1a, de coloração amarela, e que B1a apresenta absorvância maior na região de 380-400 nm. Embora os valores neste intervalo de comprimento de onda sejam baixos, é significativo o suficiente para justificar a coloração amarela do composto B1a.⁽³⁾

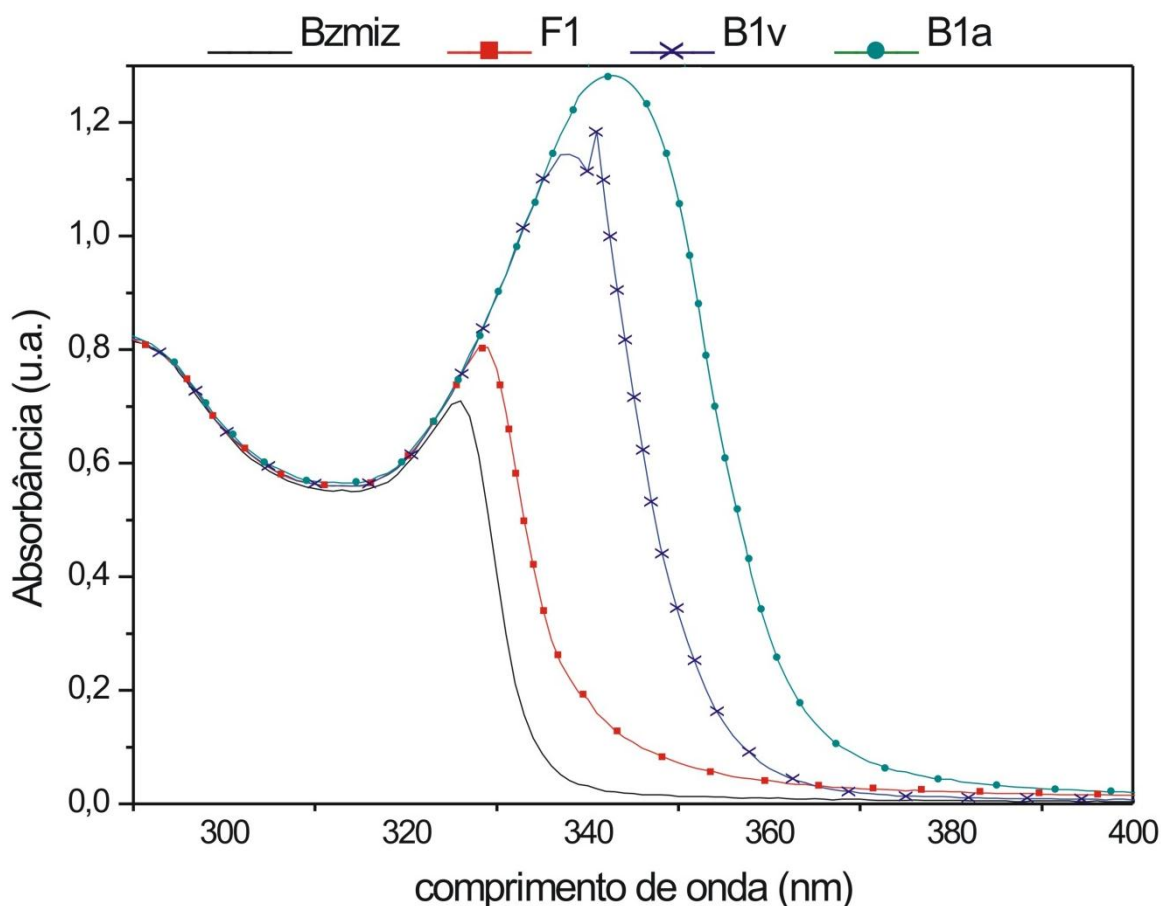


Figura 4. Espectro UV-vis dos complexos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2$, F1, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$, B1v, $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$, B1a, e do ligante 2-mercapto-benzimidazol na região de 400 a 290 nm em DMSO.

Na figura 5 mostrada a seguir, notamos que para o ligante 2-mercaptoimidazol (Miz) livre, a região UV do espectro eletrônico foi determinada por uma única banda em 300 nm. Para todos os compostos complexos há a aparição de mais uma banda, o que demonstra transição $\pi \longrightarrow \pi^*$ e evidência à transferência de carga. Neste caso há também evidências de energia mais baixa para F4 em comparação com o B4 visto que na segunda banda para esses complexos o $\lambda_{\text{máx}}$ da segunda banda é de 344 nm para o B4 e 323 nm para o F4.^(37,38)

Note que a segunda banda apresenta-se menos intensa para o F4 do que para B4, de coloração amarela, e que B4 apresenta absorvância maior na região de 380-400 nm. Embora os valores neste intervalo de comprimento de onda sejam baixos, é significativo o suficiente para justificar suas colorações amarela (B4) e caramelo (F4) de maneira concisa.⁽³⁾

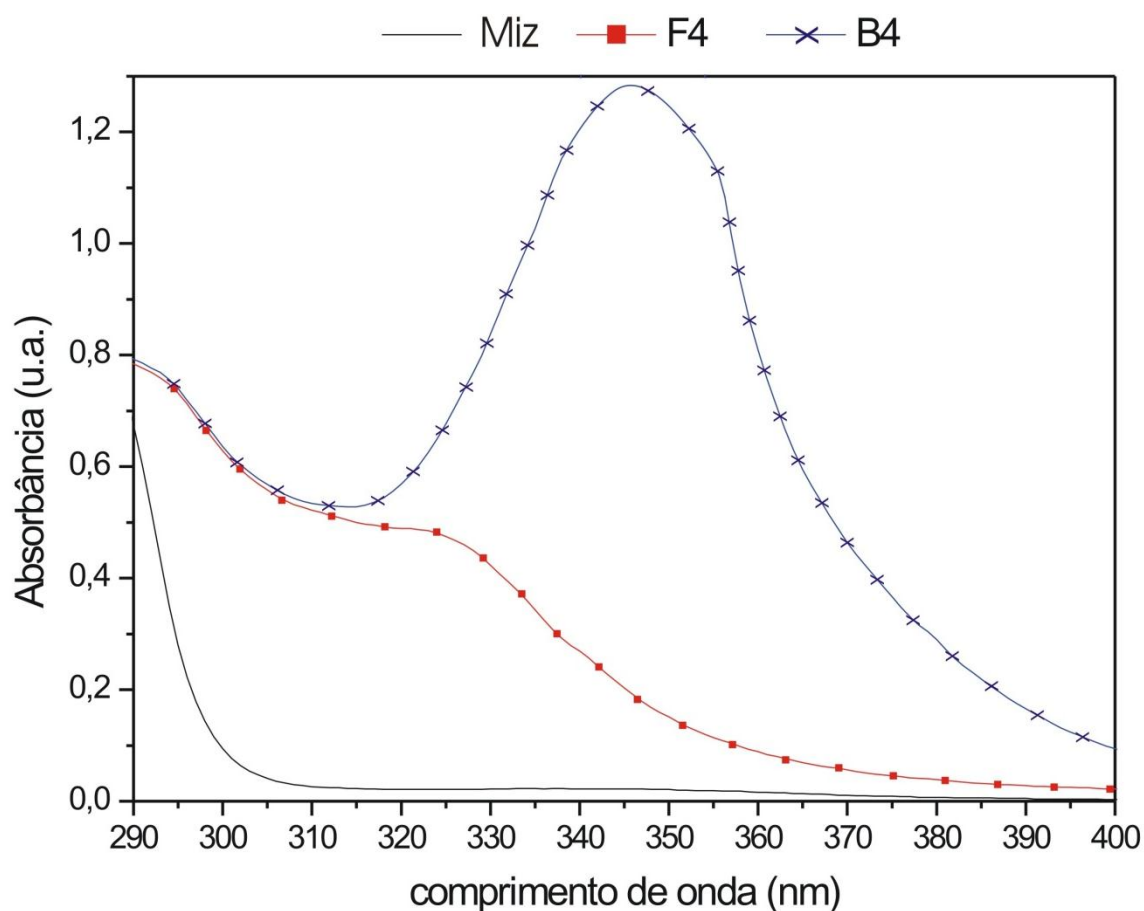


Figura 5. Espectro UV-vis dos complexos de $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, F4, e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, B4, e do ligante 2-mercapto-imidazol na região de 400 a 290 nm em DMSO.

IV. Termogravimetria:

A termogravimetria para os complexos foram realizadas com diferentes amostras do mesmo composto para se obter uma maior precisão dos resultados. No entanto, os dados obtidos através da TG não nos fornecem cálculos consistentes com os demais dados obtidos em outras técnicas a fim de nos fornecer uma certeza adicional para a massa molar dos complexos. Isso ocorre porque a perda porcentual total de massa não é compatível com a massa molar estipulada, sendo a massa remanescente menor que a massa molar dos óxidos dos metais em questão, antimônio e bismuto.

Supõe-se que espécies de antimônio e bismuto geradas durante a termogravimetria estejam sendo volatilizadas no decorrer do processo, o que nos fornece tal inconsistência.

Foi possível determinar através das termogravimetrias e das análises elementares, que há para alguns casos MeOH ou H_2O coordenados ou presentes na rede cristalina dos complexos. Através da perda porcentual referente ao primeiro patamar (quando ocorre abaixo de 200°C) foi possível

determinar quantas moléculas estão envolvidas em cada caso. Na tabela 4 a seguir resumem-se os resultados de cálculos realizados para valores de perdas de massa molar em porcentagem para o primeiro patamar e as massas molares teóricas.

Tabela 4. Valores obtidos e calculados.

Complexo	MM teórica (g/mol)	% de perda no 1º patamar	g/mol do 1º patamar
$\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$	487,66	-5,937	29
$\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$	424,70	-7,232	31
$\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	465,20	-5,175	24

Concluiu-se que em $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2$ e $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$ há uma molécula de metanol coordenada ou em rede e que $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$ é provavelmente dihidratado, visto que a perda de 24 g/mol no 1º patamar equivale a aproximadamente 1,5 moléculas de H_2O ; enquanto que $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$ não possuem nem água ou metanol, pois não apresentaram o primeiro patamar inferior a 200 °C.

Foram realizados testes de pontos de fusão a fim de serem determinadas faixas de fusão para os complexos sintetizados. Porém para todos os casos ocorreu decomposição dos compostos antes de ser observada fusão. As temperaturas em que se iniciou a decomposição dos complexos são 200°C para o $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2$, 190°C para $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, 185 °C para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$, 180 °C para $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$ e 180 °C para $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$. Tais valores são consistentes com os patamares de perdas observados na termogravimetria dos complexos.

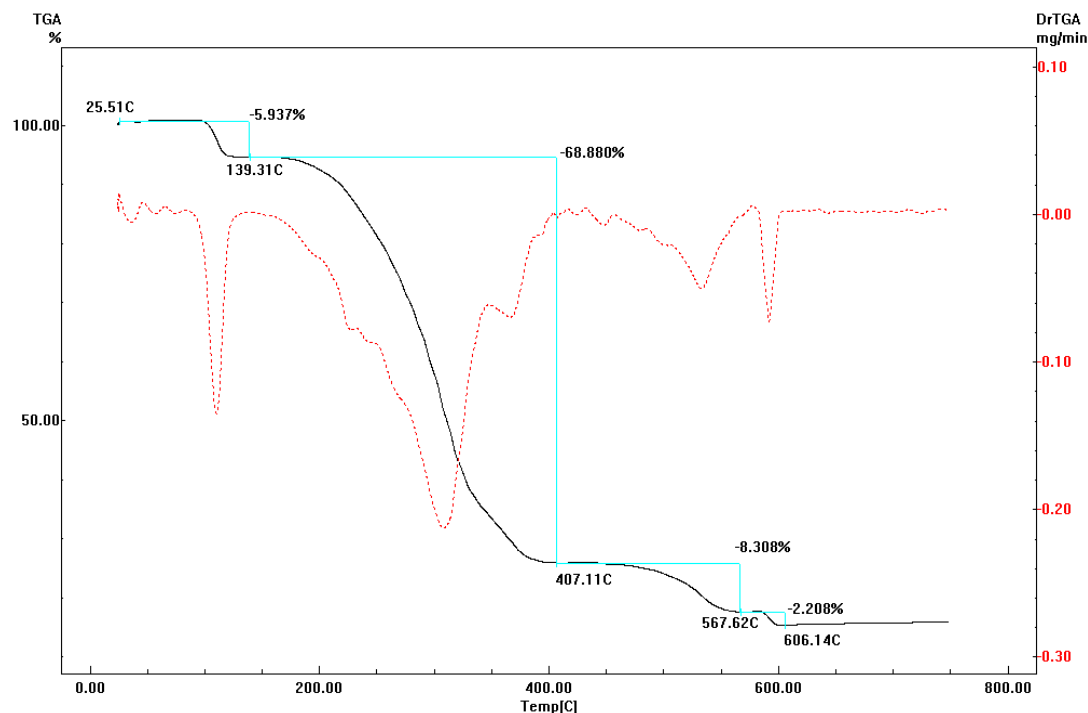


Figura 6. Análise termogravimétrica do complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$

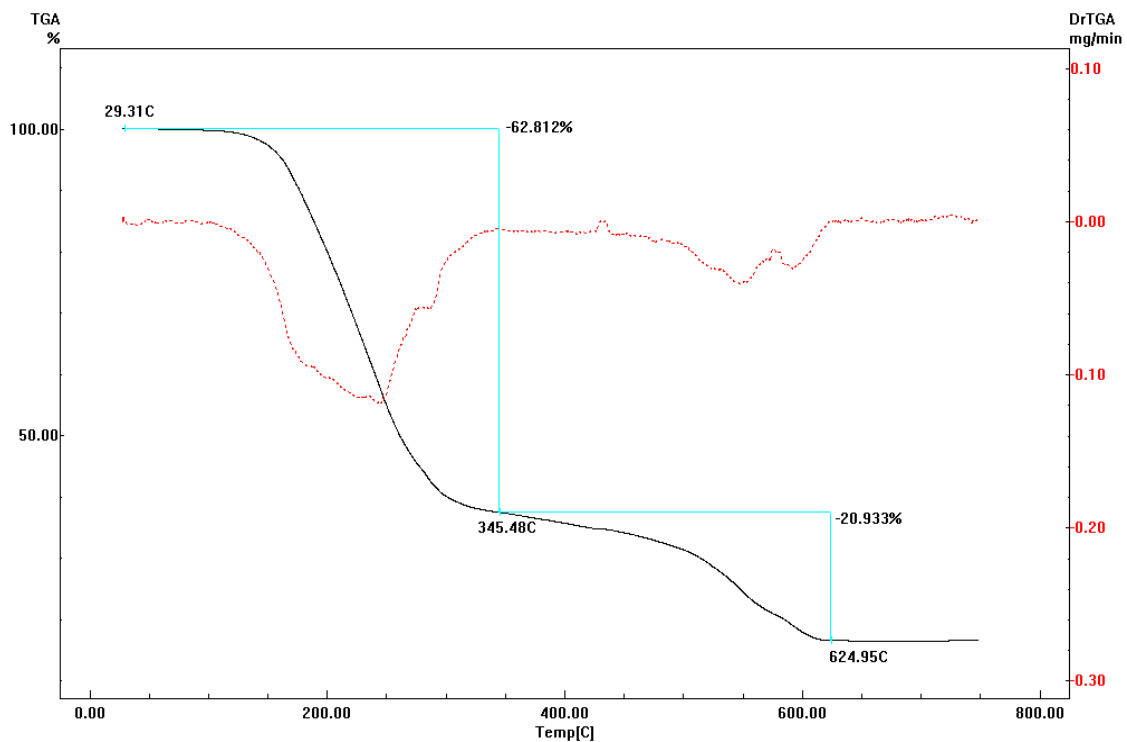


Figura 7. Análise termogravimétrica do complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$.

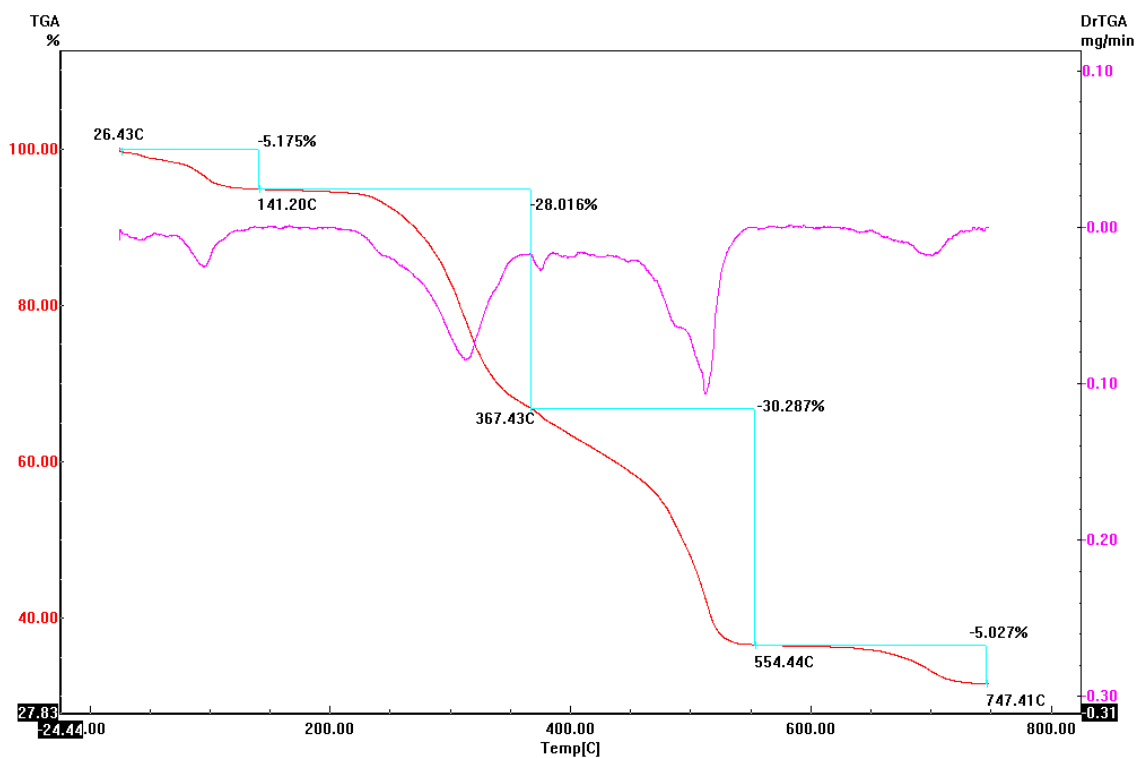


Figura 8. Análise termogravimétrica do complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

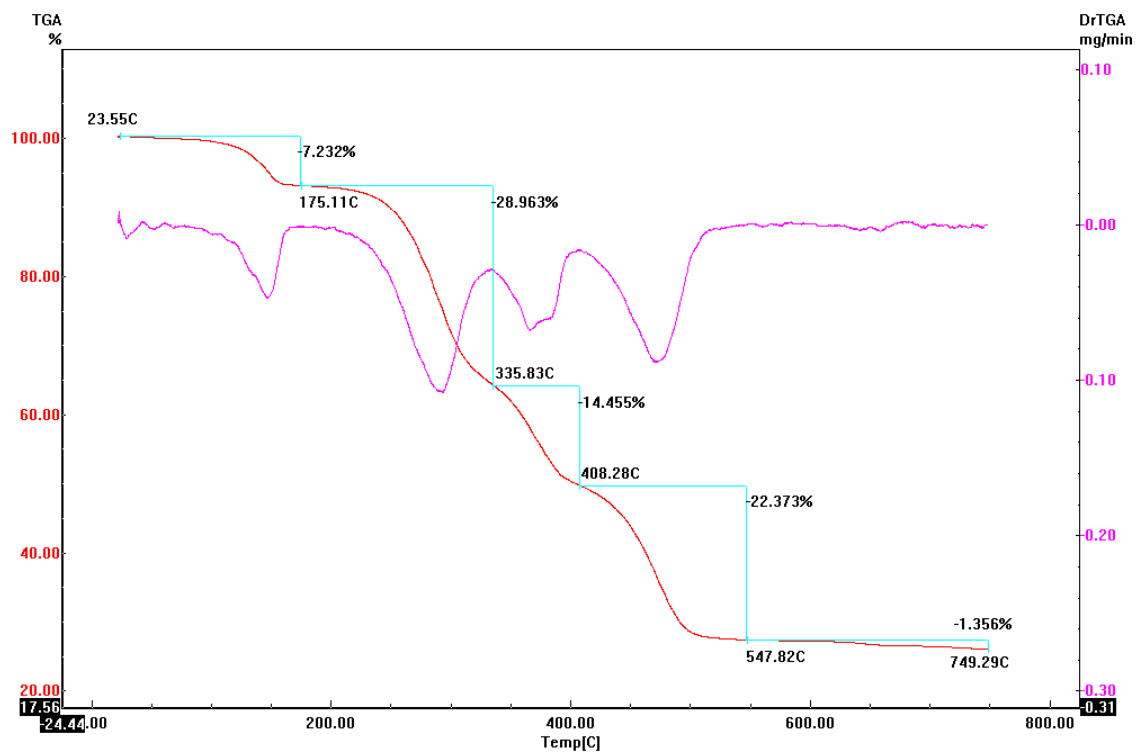


Figura 9. Análise termogravimétrica do complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$.

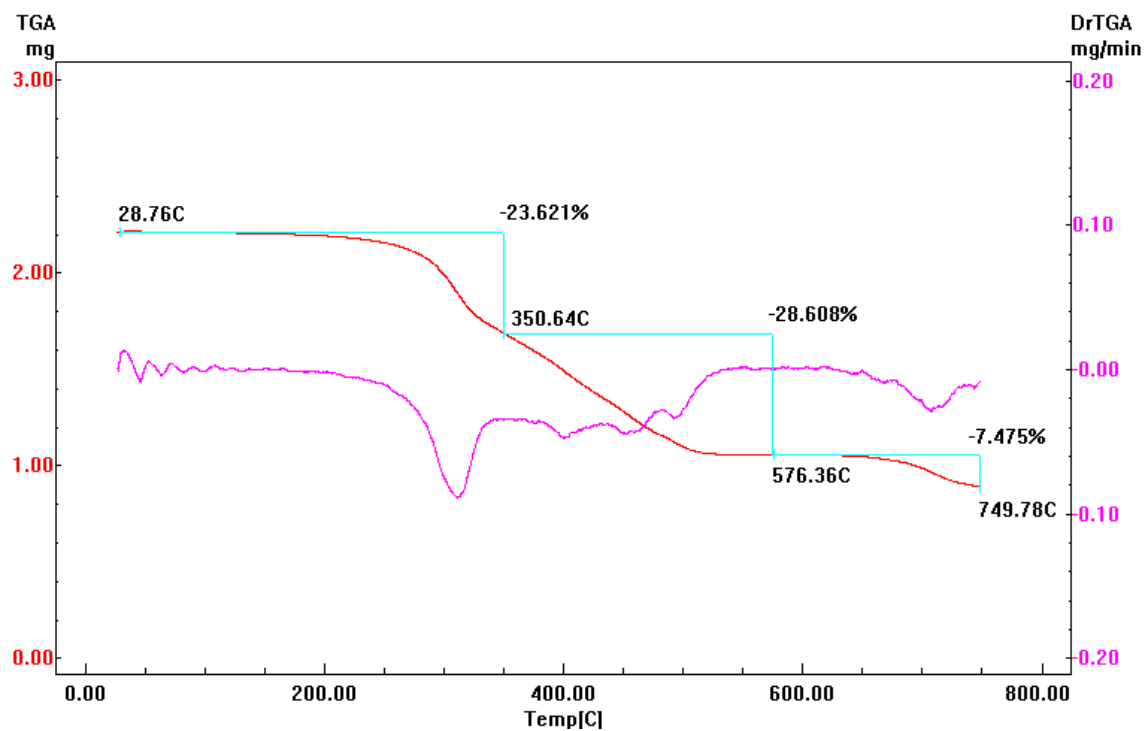


Figura 10. Análise termogravimétrica do complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$.

V. Ressonância Magnética Nuclear:

As atribuições dos sinais para espectros de hidrogênio e de carbono dos complexos foram feitas em comparação com os deslocamentos químicos e as formas dos sinais nos espectros de hidrogênio e carbono para os ligantes (experimental e da literatura).

a) Interpretação dos espectros de RMN de hidrogênio para o ligante Bzmiz e os complexos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ e $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:

A figura 11 a seguir nos dá representações dos compostos com os hidrogênios destacados para discernirmos os prótons homotópicos e auxiliar nas atribuições resumidas tabela 5 dos espectros de RMN de hidrogênio.

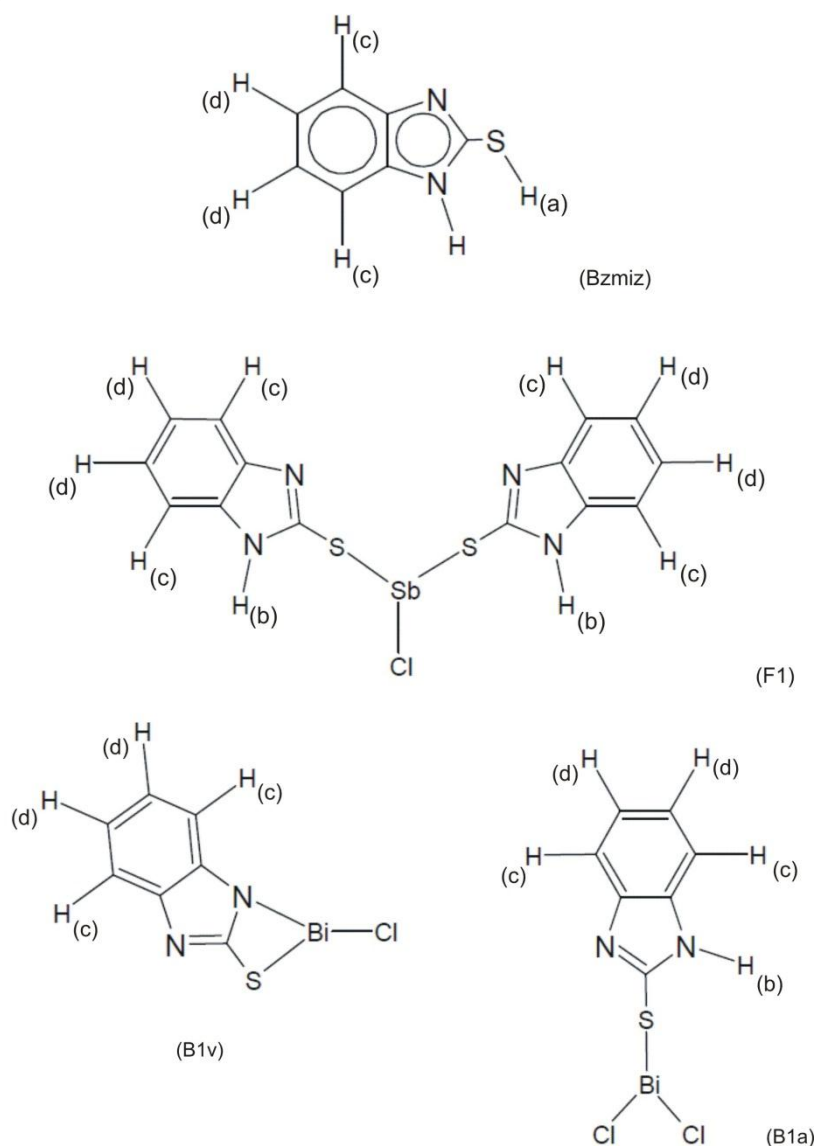


Figura 11. Estruturas com hidrogênios destacados para o ligante Bzmiz, e os complexos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1), $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v) e $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).

De acordo com a literatura, as atribuições dos sinais para o espectro de hidrogênio do ligante Bzmiz demonstra um singlete para o grupo –SH com o valor de deslocamento químico em torno de 2,95 ppm.⁽³⁸⁾ A ausência característica deste próton nos espectros dos complexos formados corresponde à desprotonação do grupo, visto que há a coordenação do enxofre com as espécies metálicas Sb(III) e Bi(III).

O multiplete que aparece na região de deslocamento químico em torno de 7,15 a 7,69 ppm é atribuído aos prótons aromáticos do benzimidazol e os espectros de hidrogênio dos complexos apresentam padrão similar, sem grandes alterações. Trata-se de um multiplete classificado como simples de primeira ordem, ou seja, com números de sinais dados por prótons vizinhos acoplados com a mesma constante de acoplamento ou muito próxima (no caso $J = 7.1$ Hz para todos os casos). Além de espectros realizados em solução de *d6*-DMSO foram feitos espectros em *d6*-acetona, a fim de se estudar possíveis causas para a pouca variação no que diz respeito aos deslocamentos químicos do multiplete dos complexos em relação ao ligante livre, porém a pequena variação foi mantida para os espectros de RMN de hidrogênio.

O grupo –NH apresenta-se no espectro de hidrogênio como um singlete com deslocamento químico em torno de 12,00 a 14,00 ppm. Torna-se muito importante nos complexos formados, pois caso haja coordenação entre o metal e o nitrogênio deste grupo a desprotonação irá causar ausência deste sinal no espectro.⁽³⁸⁾

Tabela 5. Dados experimentais e teóricos de RMN de hidrogênio em *d6*-DMSO para Bzmiz, F1, B1v e B1a.

Composto	Atribuições	δ ppm experimental	δ ppm literatura
Bzmiz	H(a) - SH H(b) - NH H(c), H(d) aromáticos	2,509 12,498 7,341 a 6,931	2,950 12,550 7,150 a 7,690
F1	H(a) - SH H(b) - NH H(c), H(d) aromáticos	---- 12,464 7,871 a 7,090	---- ---- ----
B1v	H(a) - SH H(b) - NH H(c), H(d) aromáticos	---- 12,500 7,162 a 7,103	---- ---- ----
B1a	H(a) - SH H(b) - NH H(c), H(d) aromáticos	---- 12,543 7,155 a 7,143	---- ---- ----

Nota-se que o singlete referente ao próton do grupo N-H para o complexo F1 é largo enquanto que nos demais complexos temos um singlete agudo. Segundo a literatura⁽³⁹⁾ é característico deste próton sofrer troca rápida, intermediária ou lenta. No caso de troca rápida, os hidrogênios são desacoplados do átomo de nitrogênio e dos hidrogênios do carbono adjacente e o sinal aparece como um singlete agudo, como pôde ser observado para B1v e B1a. Quando a velocidade de troca é lenta, como no caso de F1, por causa da relaxação moderada e eficiente induzida pelo momento de quadrupolo elétrico do núcleo de nitrogênio o próton irá então sofrer efeito dos três estados de spin do núcleo do nitrogênio produzindo um singlete largo.⁽³⁹⁾

Podemos notar que para o espectro de hidrogênio do complexo B1v há a presença do próton do grupo N-H, embora se espere que esse complexo seja um quelato através de S-C-N, ou seja, esperava-se que o sinal referente a esse singlete estivesse ausente no espectro. Suspeita-se que em solução o complexo B1v sofra modificações de forma que BiCl₂(Bzmiz) e BiCl(Bzmiz) sejam uma única espécie em solução, pois como podemos observar os espectros adquiridos para B1a e B1v são semelhantes.

A seguir os espectros de RMN de hidrogênio para os compostos.

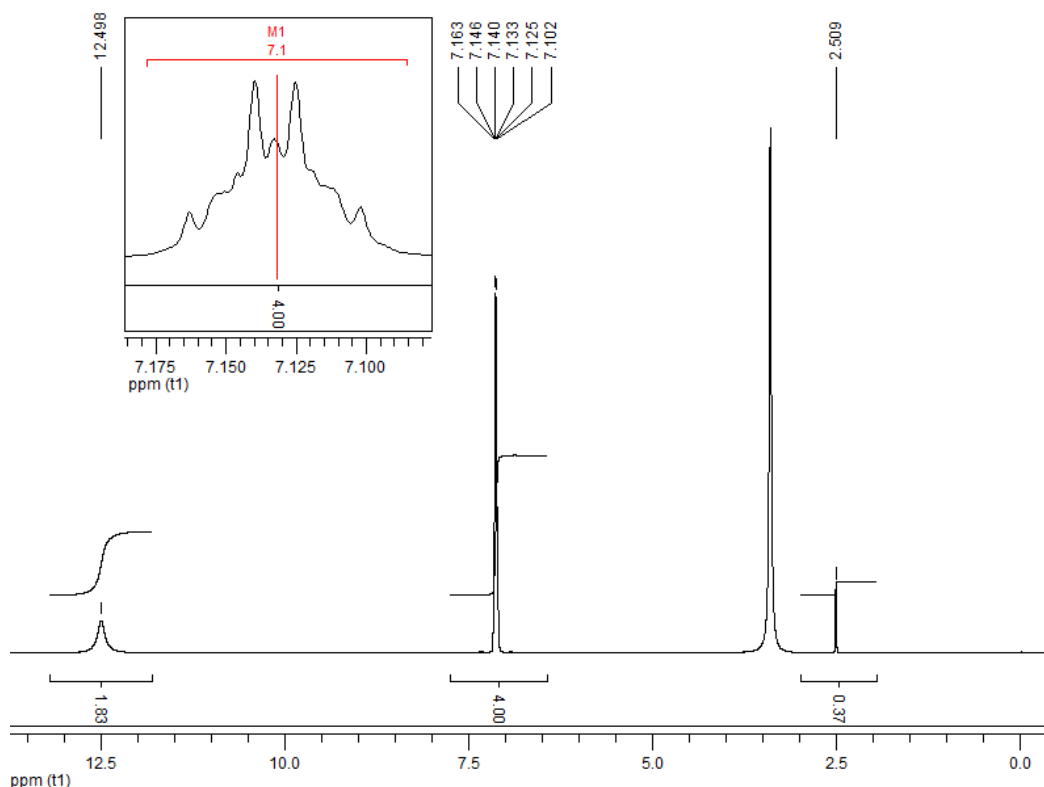


Figura 12. Espectro de RMN de hidrogênio em d₆-DMSO para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.

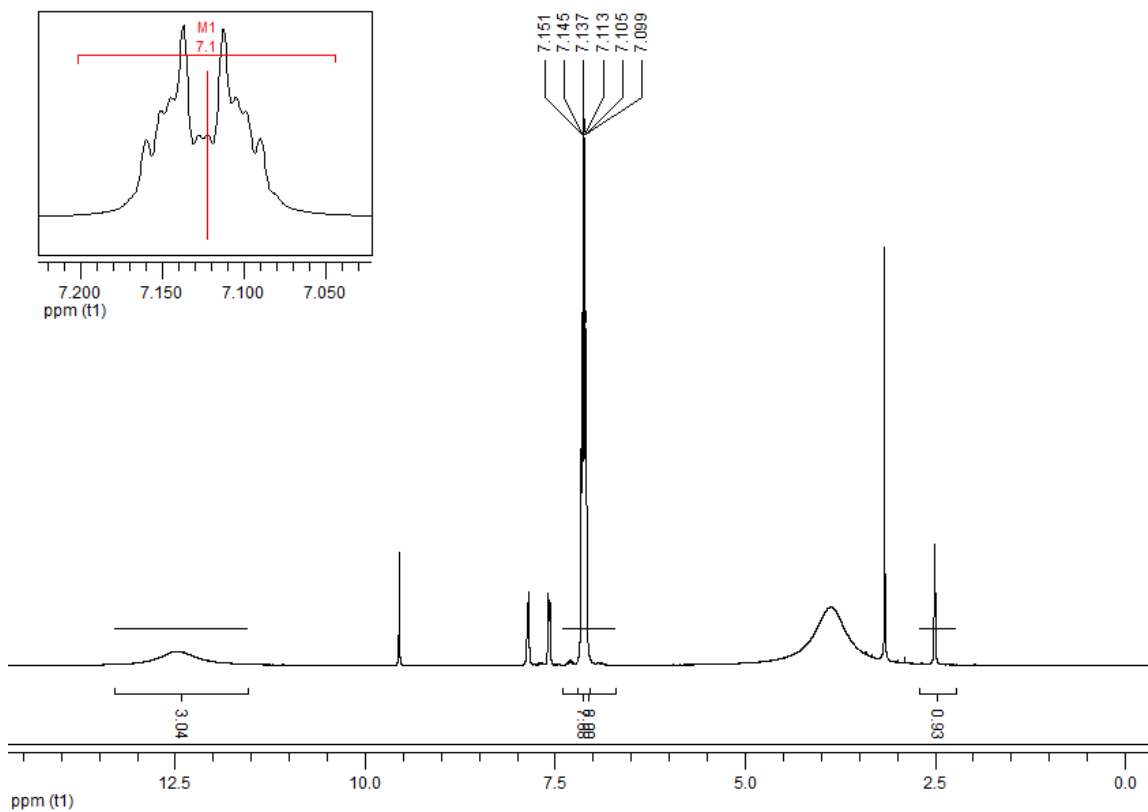


Figura 13. Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).

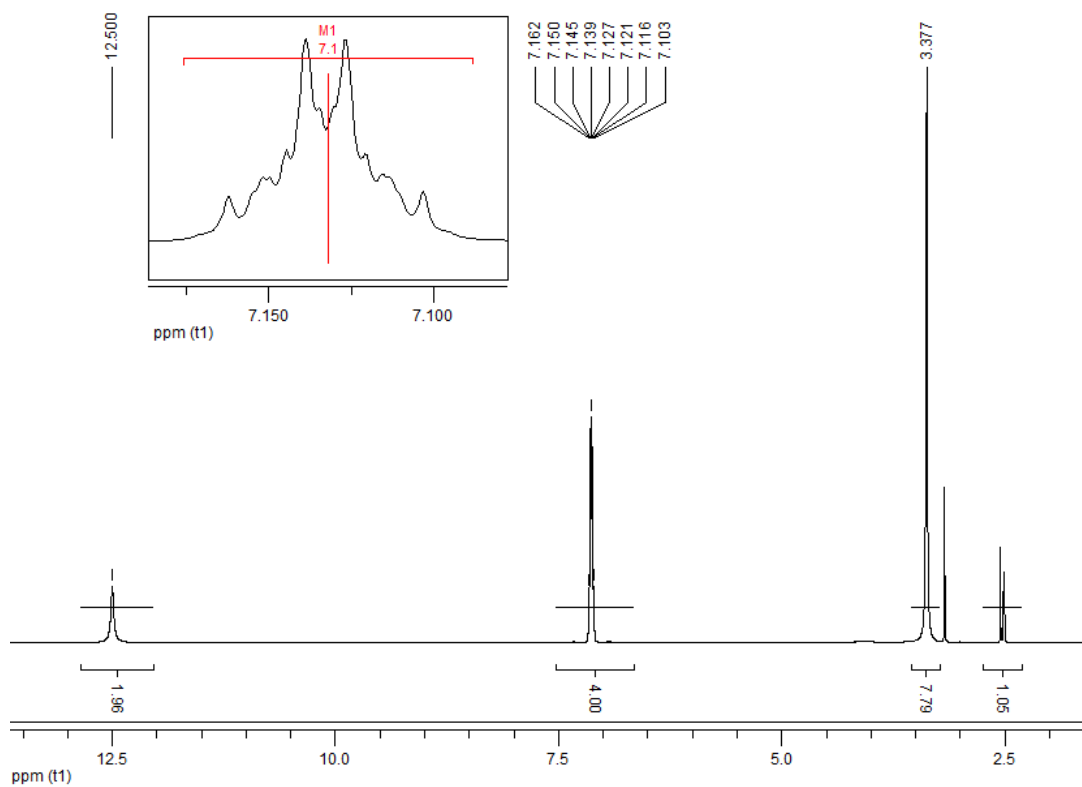


Figura 14. Espectro de RMN de hidrogênio em d6-DMSO para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).

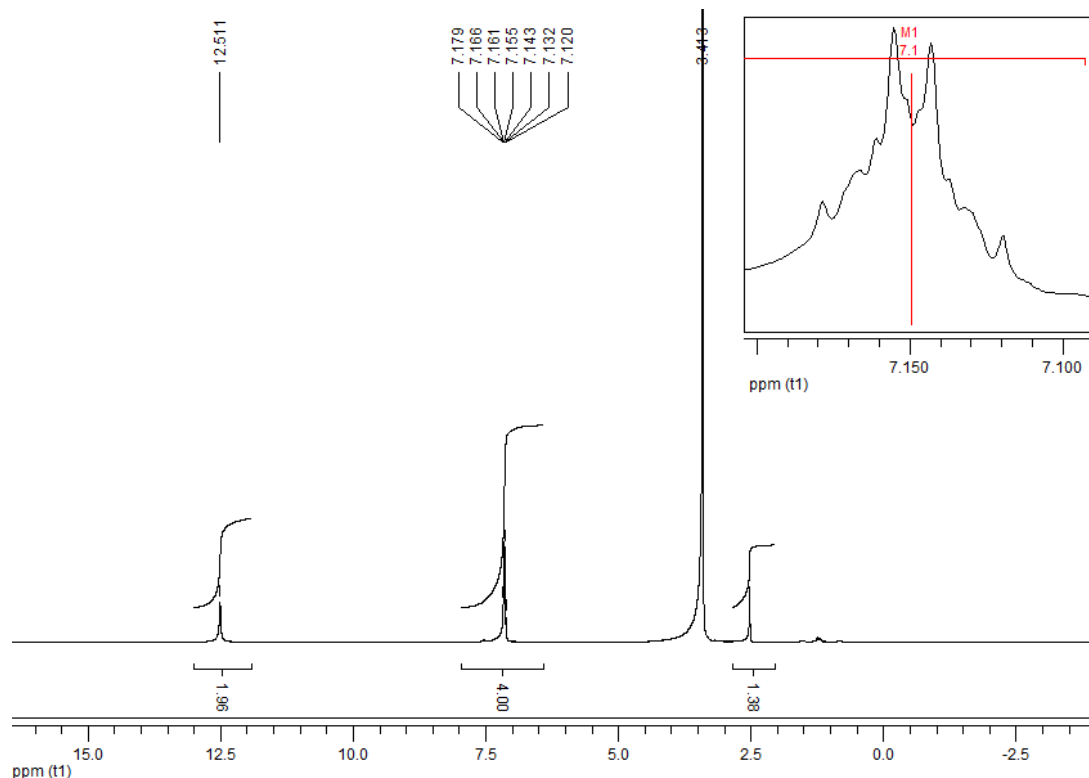


Figura 15. Espectro de RMN de hidrogênio em d₆-DMSO para BiCl₂(Bzmiz).2H₂O, (B1a).

b) Interpretação dos espectros de RMN de carbono para o ligante Bzmiz e os complexos SbCl(Bzmiz)₂.CH₃OH, (F1), BiCl(Bzmiz).CH₃OH, (B1v) e BiCl₂(Bzmiz).2H₂O, (B1a) :

A figura 16 a seguir nos apresenta as estruturas químicas para os referidos compostos contendo números nos carbonos a fim de auxiliar na visualização das atribuições dos deslocamentos químicos e encontrar os respectivos valores na tabela 6.

O espectro de carbono para o ligante Bzmiz de acordo com a literatura tem o carbono do imidazol (C1) com deslocamento químico em torno de 168 ppm.⁽⁴⁰⁾ Esse carbono encontra-se desblindado em virtude dos nitrogênios vizinhos em ambos os lados. A presença dos nitrogênios do anel imidazol também dão ao ligante característica desativante, ou seja, orientação meta para o anel aromático e como consequência os carbonos 3 e 6 no ligante são os mais blindados, seguidos dos carbonos 4 e 5 e por fim os carbonos 2 e 7 como os mais desblindados.

Os complexos sintetizados apresentam espectros de carbono similares ao ligante e seguem o mesmo raciocínio para atribuições dos deslocamentos químicos resumidos na tabela 6 a seguir.

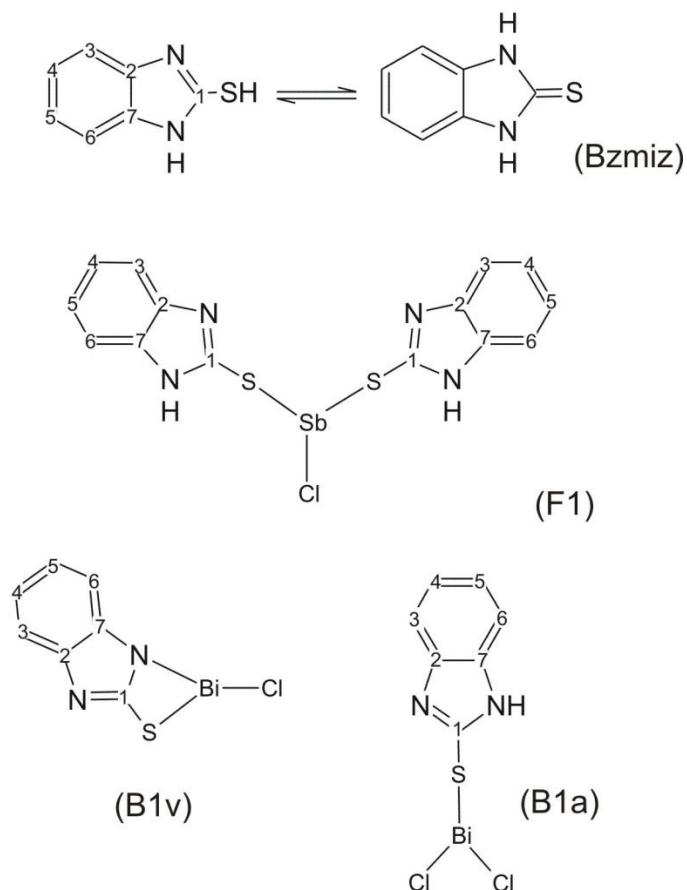


Figura 16. Estruturas representativas com carbonos numerados para Bzmiz, F1, B1v e B1a.

Tabela 6. Dados experimentais e teóricos de espectros de carbono para o ligante Bzmiz e os complexos F1, B1v e B1a em d₆-DMSO e d₆-acetona.

Composto	Atribuições	δ ppm experimental em d ₆ -DMSO	δ ppm experimental em d ₆ -acetona	δ ppm literatura
Bzmiz	C1 imidazol	168,105	170,783	168,000
	C3 e C6	109,470	110,307	----
	C4 e C5	122,307	123,391	----
	C2 e C7	132,227	133,430	----
F1	C1 imidazol	168,075	169,561	----
	C3 e C6	109,590	110,509	----
	C4 e C5	122,394	123,538	----
	C2 e C7	132,312	133,228	----
B1v	C1 imidazol	168,097	165,881	----
	C3 e C6	109,488	111,276	----
	C4 e C5	122,326	124,279	----
	C2 e C7	132,246	133,053	----
B1a	C1 imidazol	168,018	166,777	----
	C3 e C6	109,493	111,128	----
	C4 e C5	122,338	124,143	----
	C2 e C7	132,217	133,151	----

Os espectros de carbono e DEPT foram utilizados para confirmação da atribuição do sinal dos átomos de carbono. Uma vez que átomos de carbono não hidrogenados não apresentam sinal neste tipo de espectro (DEPT), pôde ser observado o desaparecimento do sinal referente à C1 e o sinal referente aos carbonos 2 e 7 para todos os compostos. Permanecendo apenas os sinais referentes aos carbonos aromáticos, C3 e C6 em torno de 109 ppm e C4 e C5 em torno de 122 ppm.

Não houve variações significativas para os valores de deslocamento químico dos complexos em relação ao ligante livre Bzmiz em d6-DMSO; porém os resultados se mostraram expressivos o suficiente para observarmos uma leve blindagem no carbono C1 e nos homotópicos C2 e C7 para todos os complexos em d6-acetona. Tal efeito é resultante da diminuição do efeito indutivo negativo causado pelos nitrogênios vizinhos a esses carbonos, uma vez que um dos nitrogênios está coordenado ao metal causando diminuição da eletronegatividade exercida sobre o C1, C2 e C7.

Nos demais carbonos, C3 e C6, C4 e C5, observou-se leve desblindagem em relação ao ligante livre.

A seguir os espectros de carbono para os compostos.

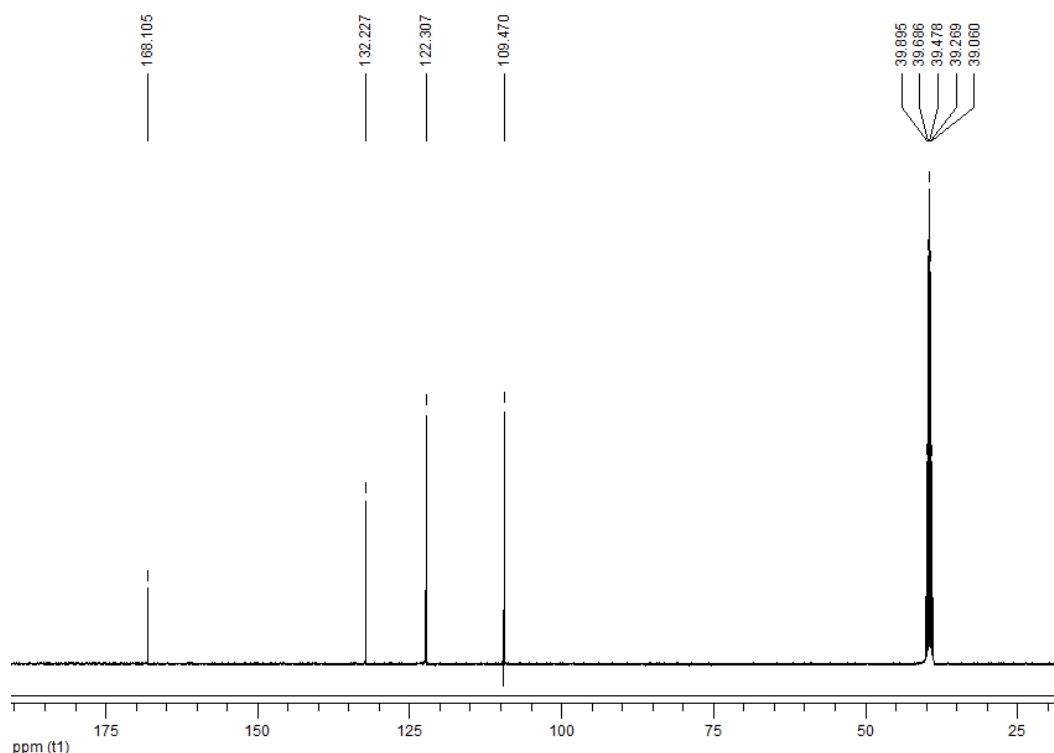


Figura 17. Espectro de RMN de carbono em d6-DMSO para ligante 2-mercapto-imidazol, Bzmiz.

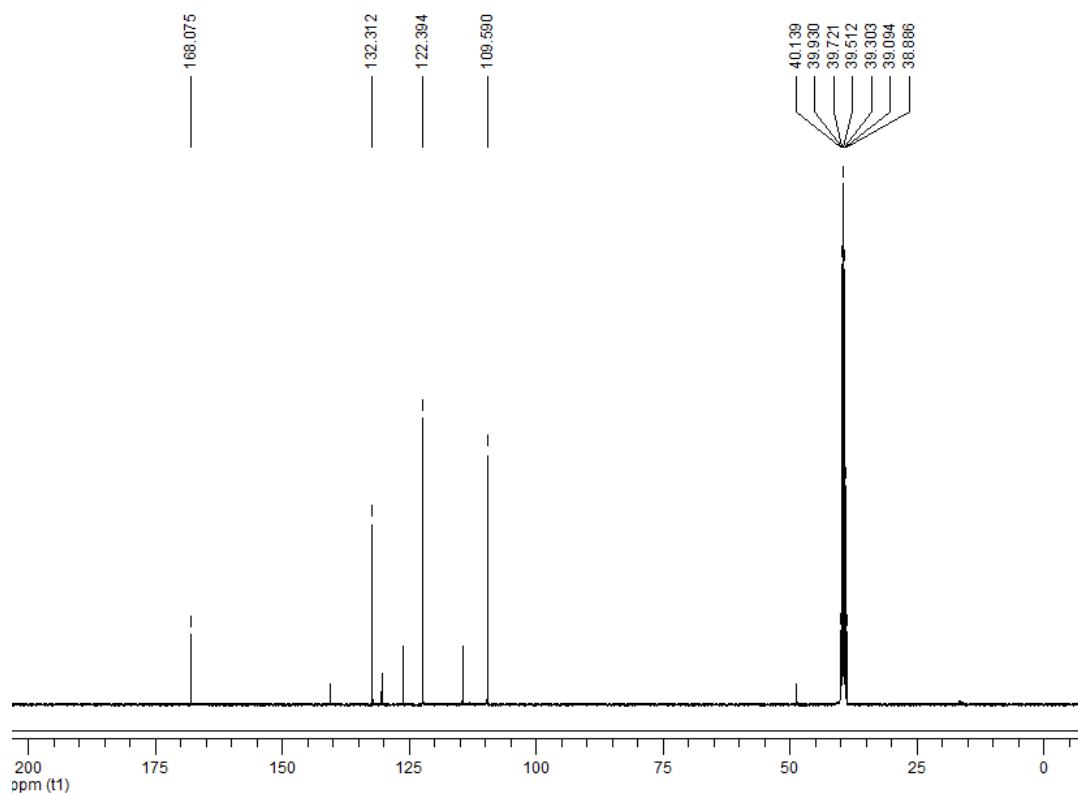


Figura 18. Espectro de RMN de carbono em d_6 -DMSO para $SbCl(Bzmiz)_2 \cdot CH_3OH$, (F1).

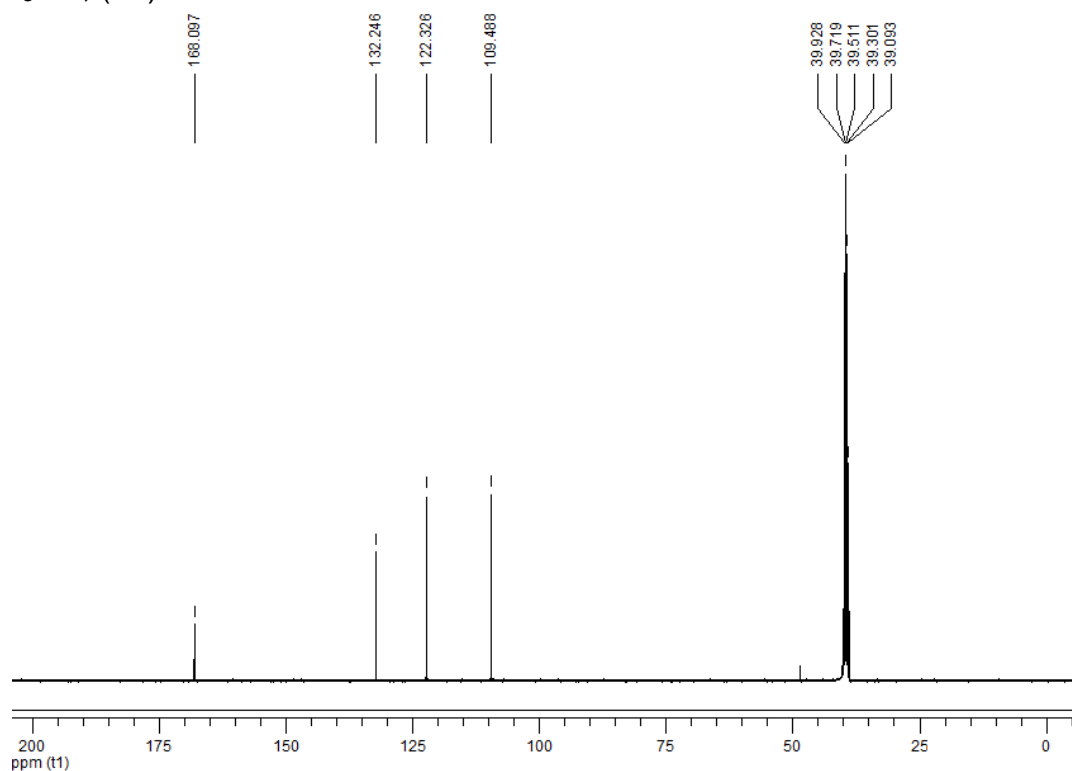


Figura 19. Espectro de RMN de carbono em d_6 -DMSO para $BiCl(Bzmiz) \cdot CH_3OH$, (B1v).

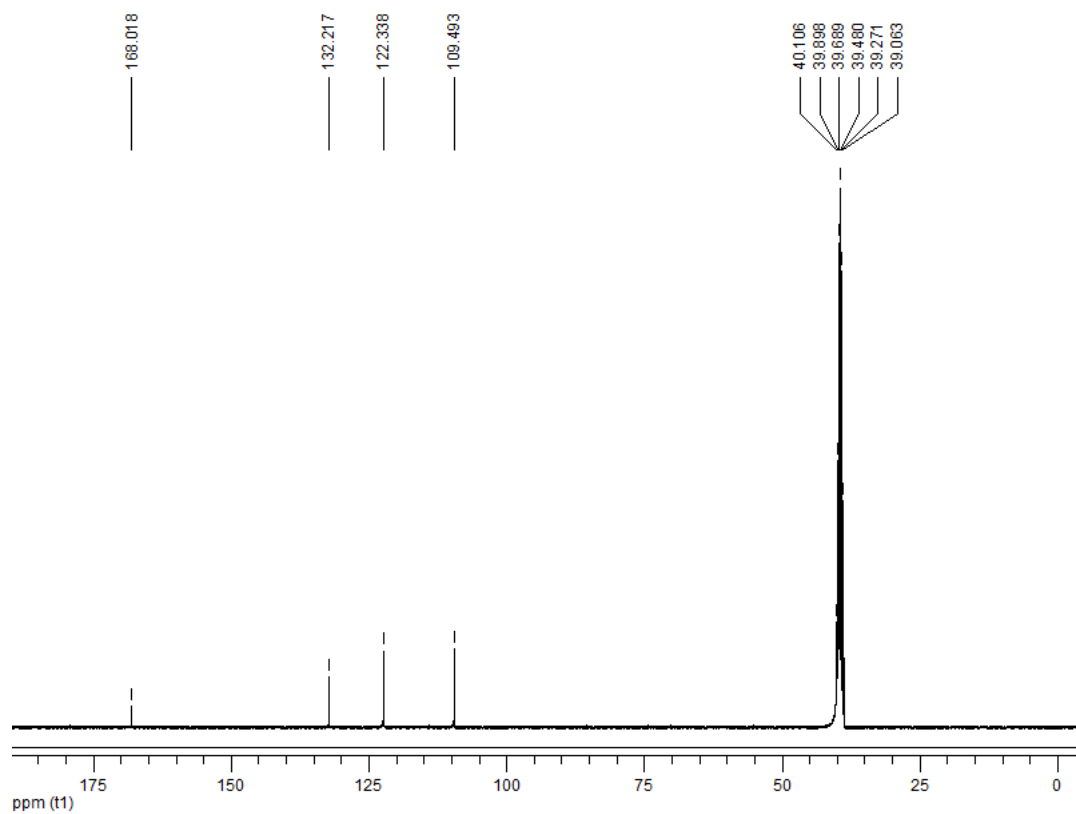


Figura 20. Espectro de RMN de carbono em d₆-DMSO para o BiCl₂(Bzmiz)·2H₂O, (B1a).

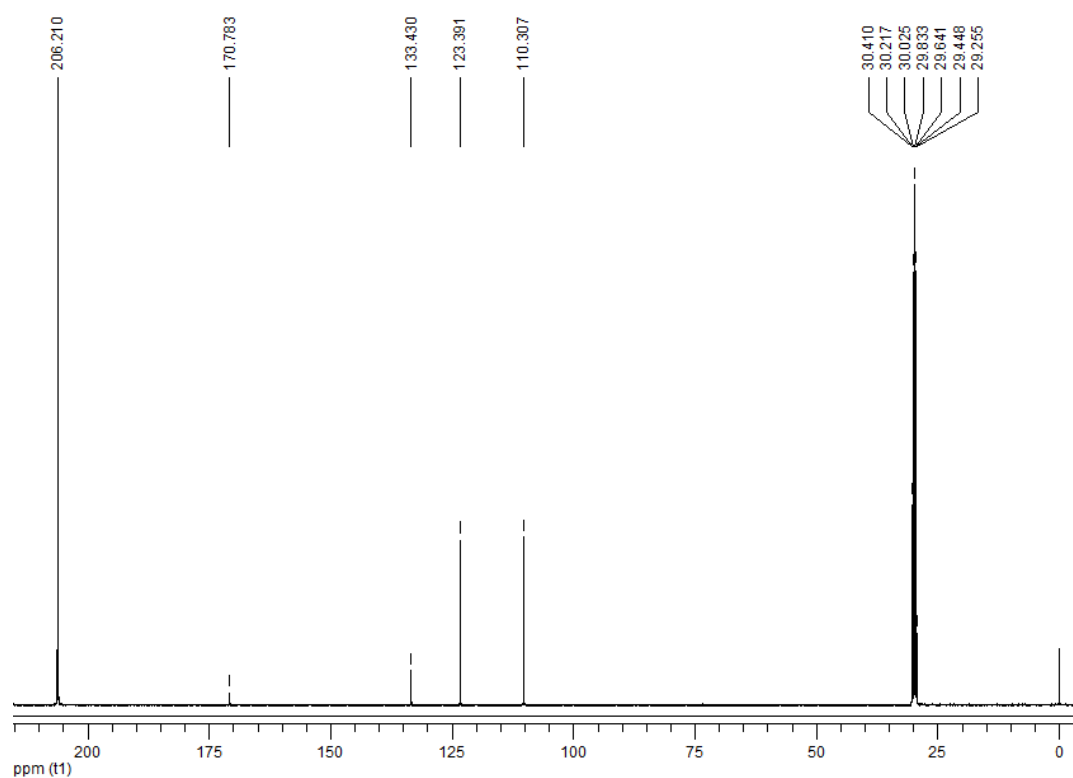


Figura 21. Espectro de RMN de carbono em d₆-acetona para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.

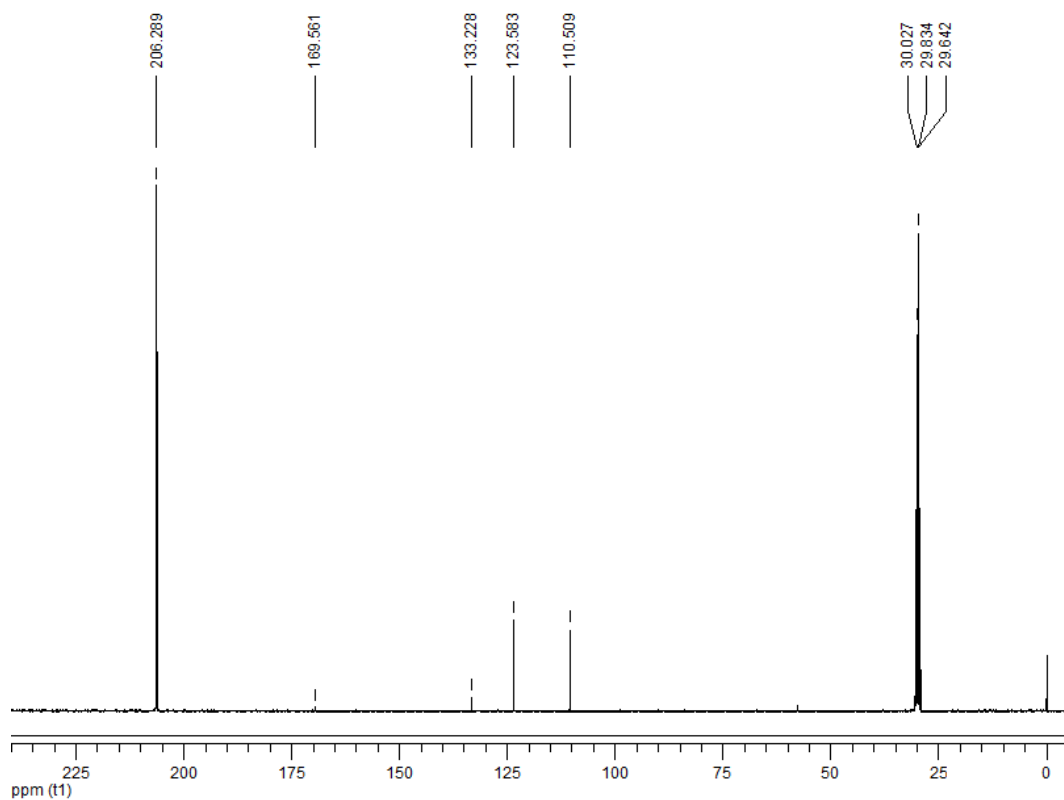


Figura 22. Espectro de RMN de carbono em d6-acetona para o $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).

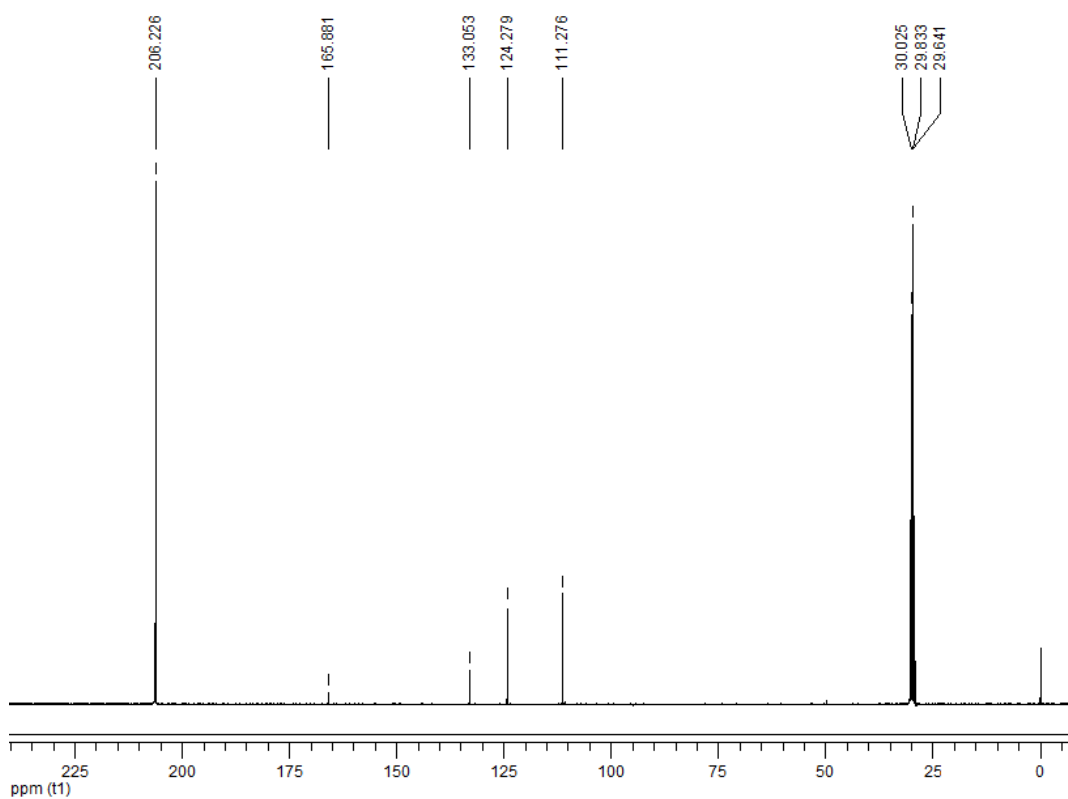


Figura 23. Espectro de RMN de carbono em d6-acetona para o $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).

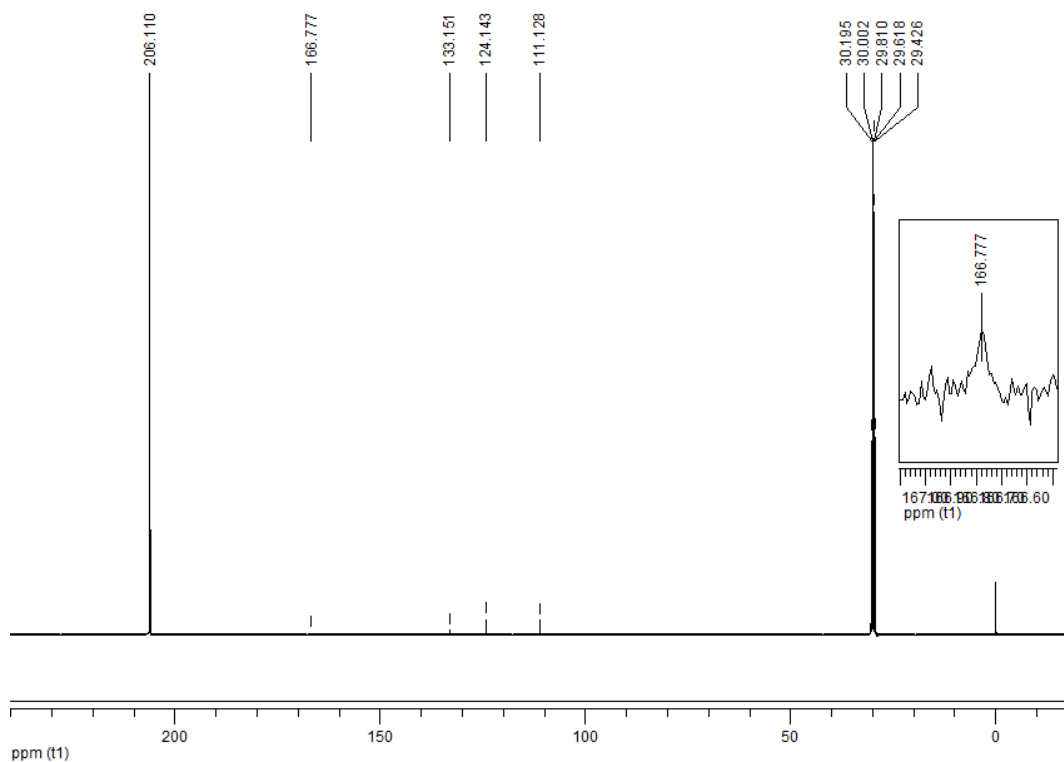


Figura 24. Espectro de RMN de carbono em d_6 -acetona para o $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).

A seguir os espectros de DEPT 135 para os complexos sintetizados.

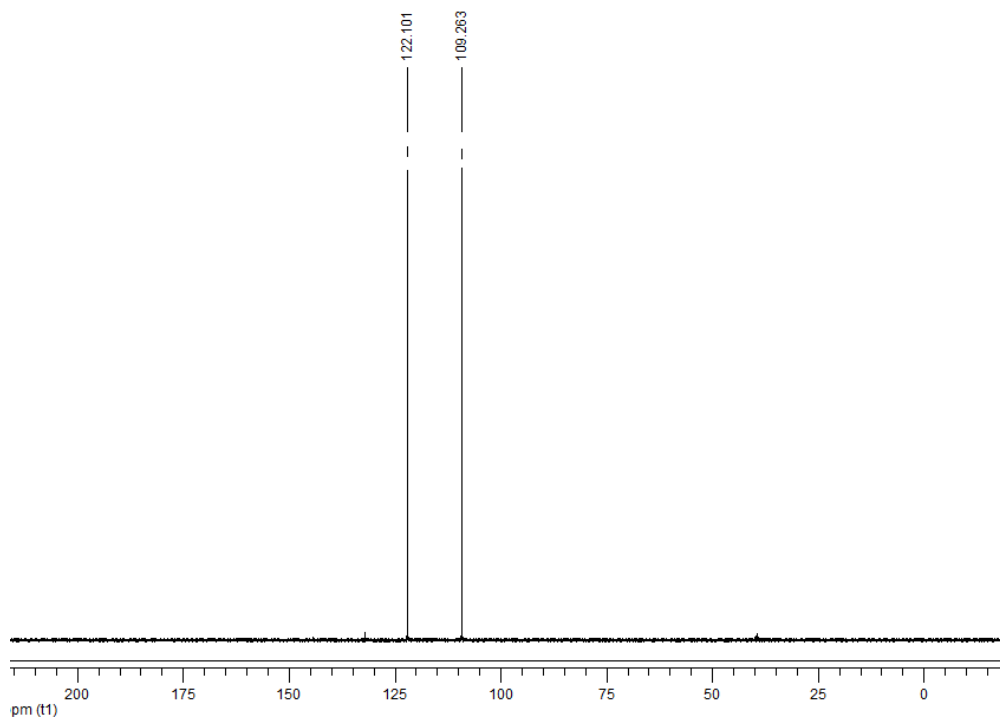


Figura 25. Espectro de DEPT 135 em d_6 -DMSO para o ligante 2-mercaptobenzimidazol, Bzmiz.

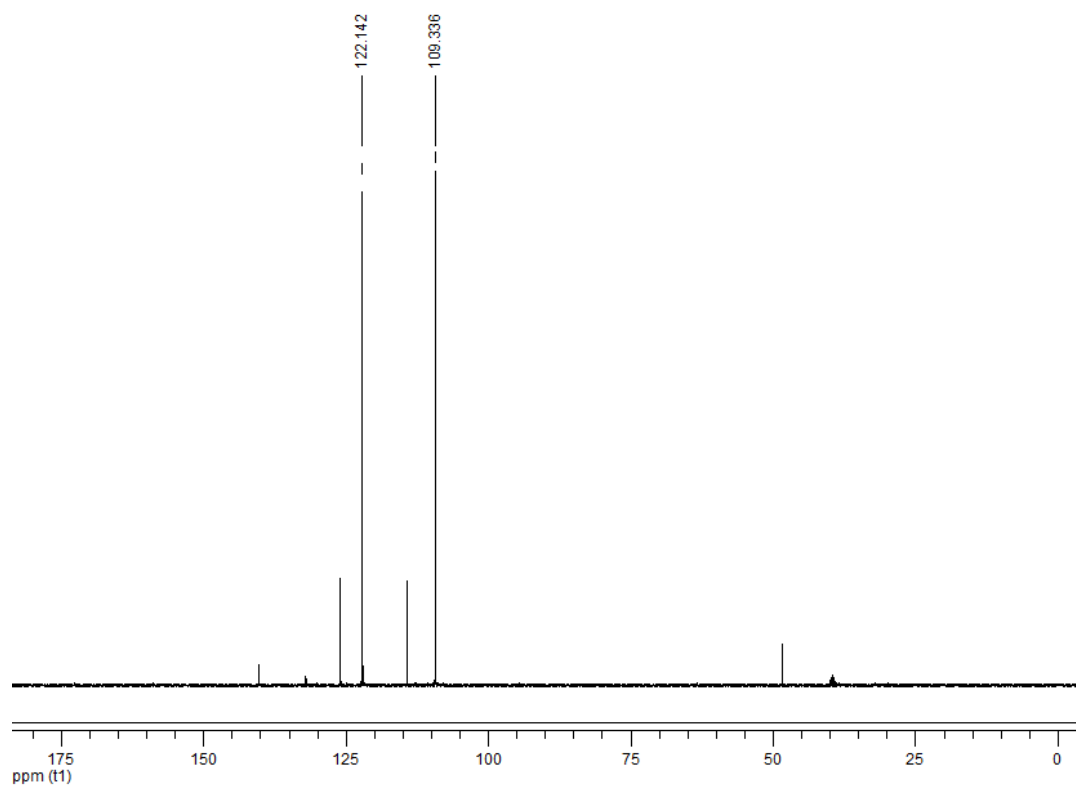


Figura 26. Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).

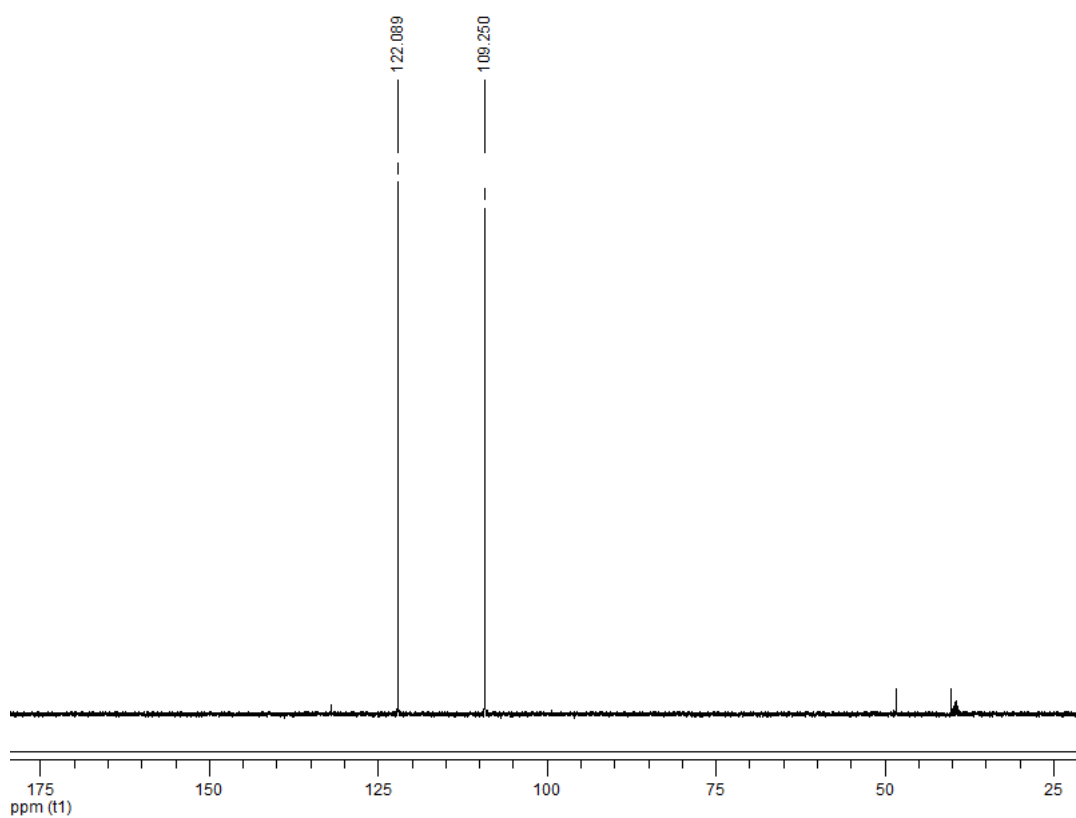


Figura 27. Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).

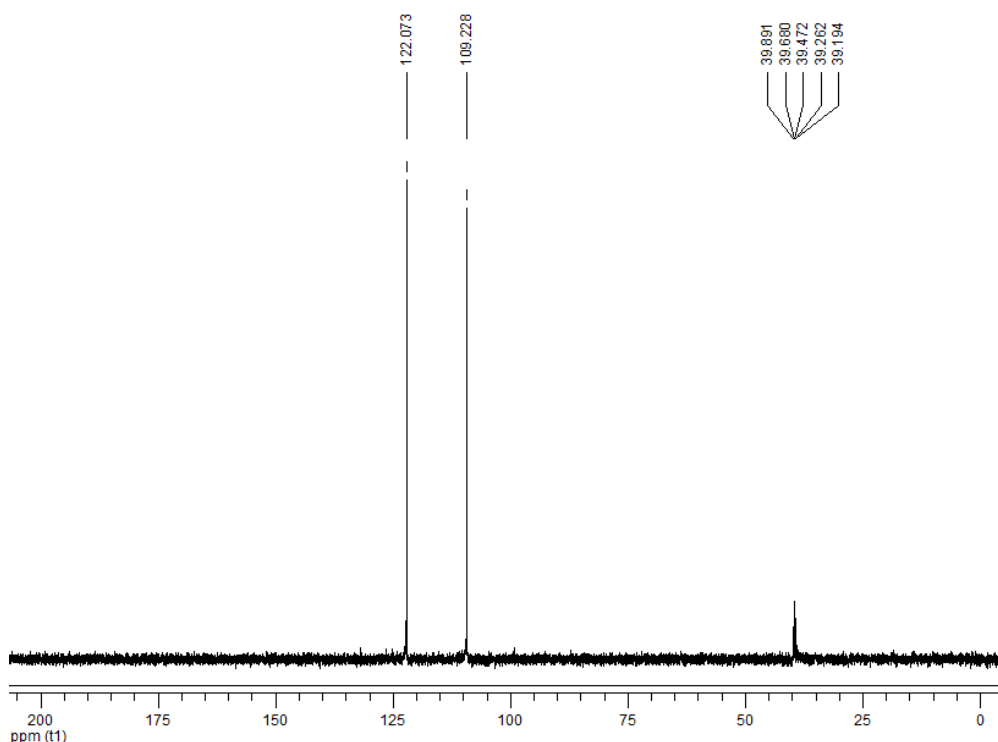


Figura 28. Espectro de DEPT 135 em d₆-DMSO para o BiCl₂(Bzmiz).H₂O, (B1a).

c) Interpretação dos espectros de RMN de hidrogênio para o ligante Miz e os complexos SbCl₂(Miz) e BiCl₂(Miz):

As atribuições para os prótons dos compostos complexos foram feitas em comparação com o espectro de hidrogênio do ligante. Consideraram-se mudanças nos valores de deslocamentos químicos apenas entre os prótons ligados aos átomos participantes da complexação com os metais; não havendo alterações significativas nos demais prótons da parte orgânica do composto. Não foram encontrados valores na literatura para os deslocamentos químicos do ligante, apenas para os prótons vinílicos, portanto considerou-se uma comparação somente entre os espectros experimentais.

Os hidrogênios representados na figura 29 a seguir e tabela 7 abaixo apresentam legendas H(a), H(b) e H(c) para que possam ser discernidos e identificados os prótons homotópicos e auxiliar na visualização.

De maneira diferente dos complexos obtidos para o ligante Bzmiz pôde-se observar nos espectros de hidrogênio em d₆-DMSO para SbCl₂(Miz) e BiCl₂(Miz) a ausência do próton do grupo N-H, e a presença do próton do grupo S-H, ou seja, há forte evidência de que a coordenação do 2-mercapto-imidazol com as espécies metálicas Sb(III) e Bi(III) se deu através do nitrogênio e não do enxofre como pode ser observado a seguir.

demonstra indícios de que a espécie -NH-C(=S)-NH- é mais estável nessa solução do que a outra forma tautomérica.

Para o espectro de hidrogênio do complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ em d_6 -acetona observou-se, de maneira diferente do RMN de hidrogênio em d_6 -DMSO, a presença de singlete atribuído ao próton do grupo -NH . Além disso, há também no espectro hidrogênio em d_6 -acetona singlete atribuído ao grupo -SH . Ambos os grupos, -NH e -SH , apresentam integração proporcional 1:1. Isso demonstra evidência de que há no complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ uma troca protônica ocorrendo entre S e N em solução de d_6 -acetona. Os deslocamentos químicos para tais grupos são bem característicos e equidistantes, de forma que se estivéssemos falando de uma troca protônica rápida teríamos um único singlete com deslocamento químico de valor intermediário ao intervalo que os distancia. Porém podemos observar nitidamente no espectro dois singletos agudos e específicos, um em 12,234 ppm (atribuído a -NH) e outro em 2,897 ppm (atribuído a -SH), o que sugere uma troca protônica lenta o suficiente para que ambas as espécies sejam detectadas no espectro e em proporções iguais.

Sugere-se que tal efeito ocorra em acetona e não em DMSO em virtude da capacidade do solvente DMSO de se coordenar aos metais. Logo, o DMSO se coordena com o Sb através de seus orbitais disponíveis, em posições axiais, formando um composto de geometria trigonal piramidal e se posicionando entre o átomo N e S, impedindo assim que a troca protônica entre esses átomos ocorra.

Para o $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, não há sinal atribuído ao próton do grupo -NH nem em d_6 -DMSO ou d_6 -acetona. Sugere-se que há uma maior proximidade entre Sb e S, devido à polarizabilidade do enxofre e por ser o Sb um semi-metal de fronteira macio-duro. Tal interação entre Sb e S aproxima mais N e S favorecendo a troca protônica entre eles. O mesmo não ocorre com o bismuto, por ser mais denso eletronicamente e estar ligado ao nitrogênio, o caráter da ligação Bi-N é mais duro que Sb-N, o que torna a interação entre Bi e S menor, não aproximando assim N e S o suficiente para que ocorra a troca protônica entre eles.

Em ambos os casos, tanto para $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ quanto $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, observou-se desblindagem dos prótons vinílicos em relação ao ligante livre nos espectros de hidrogênio em d_6 -acetona.

A seguir os espectros de RMN de hidrogênio para os compostos.

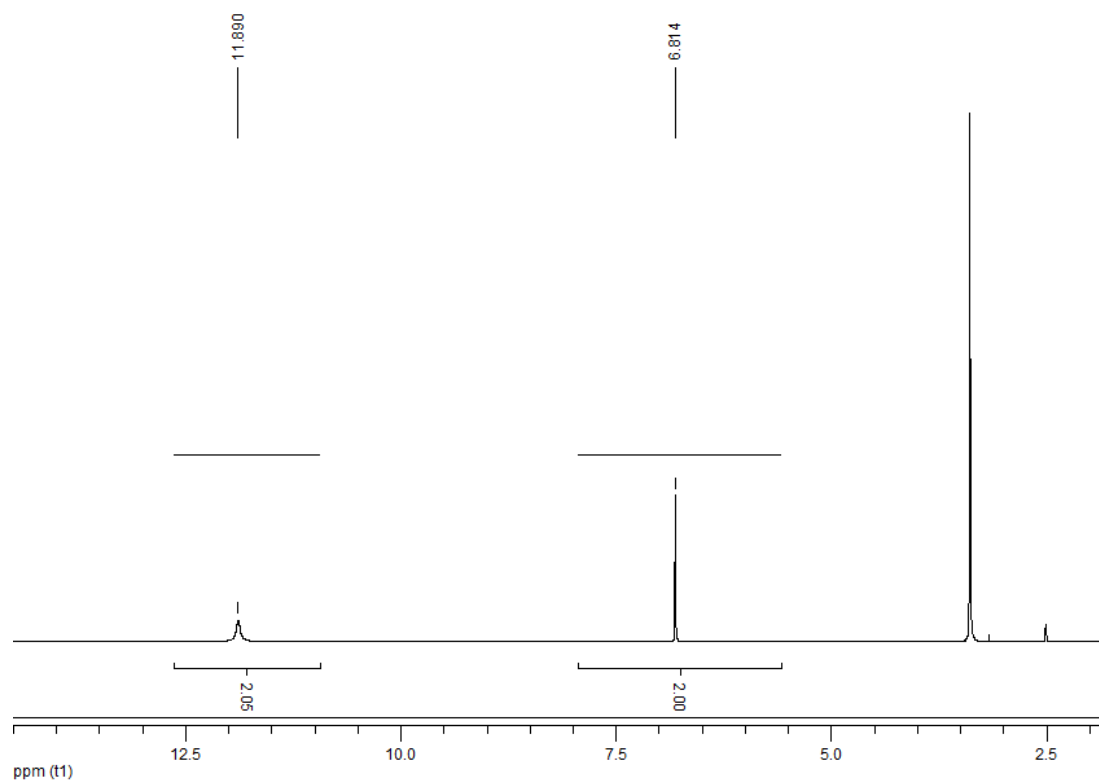


Figura 30. Espectro de hidrogênio em d6-DMSO para o ligante 2-mercaptoimidazol, Miz.

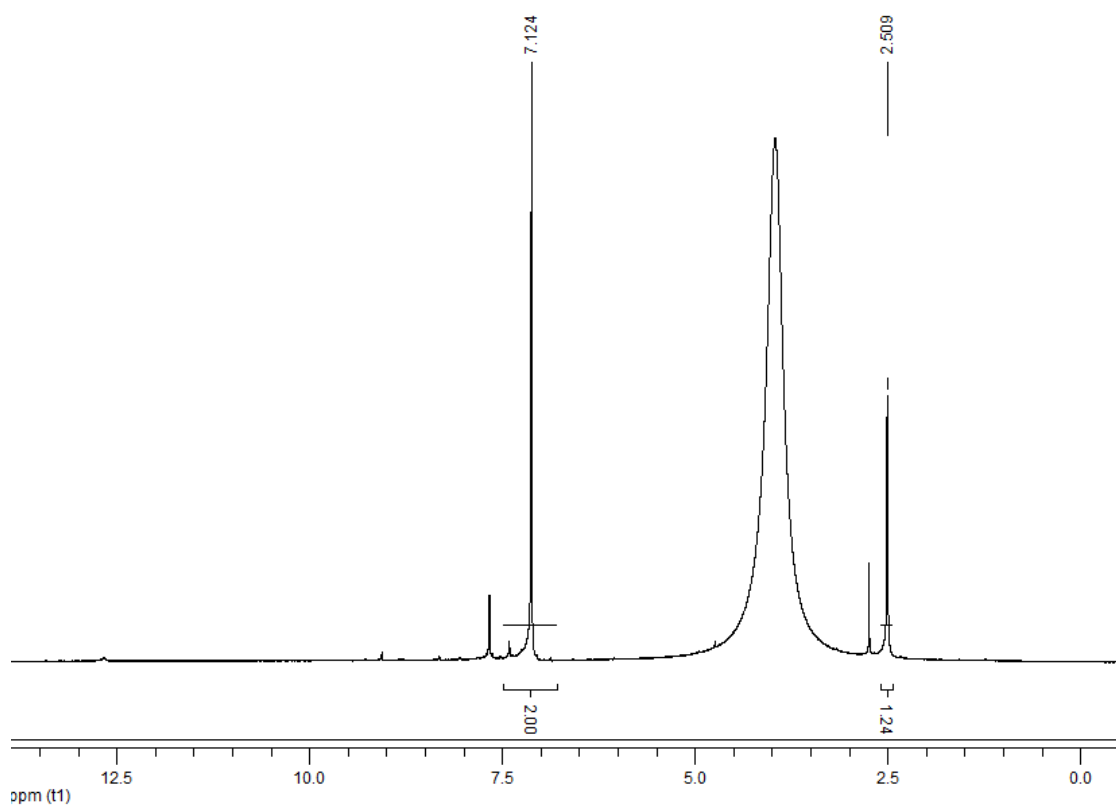


Figura 31. Espectro de hidrogênio em d6-DMSO para o complexo SbCl₂(Miz), (F4).

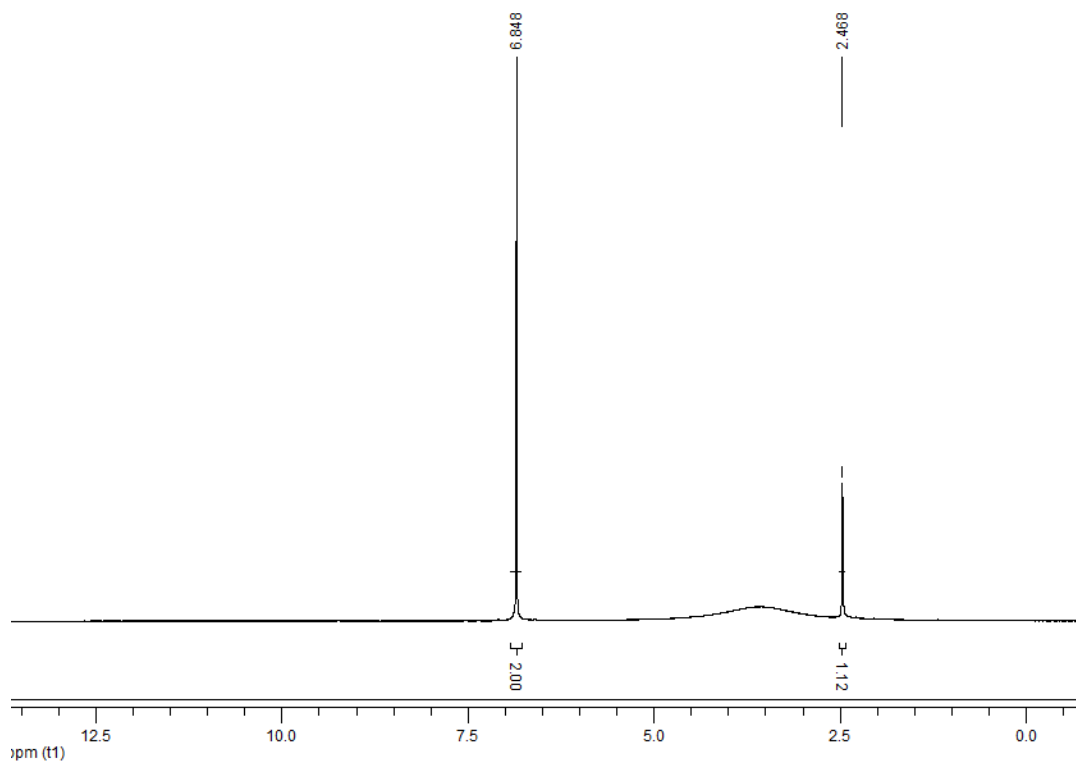


Figura 32. Espectro de hidrogênio em d6-DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).

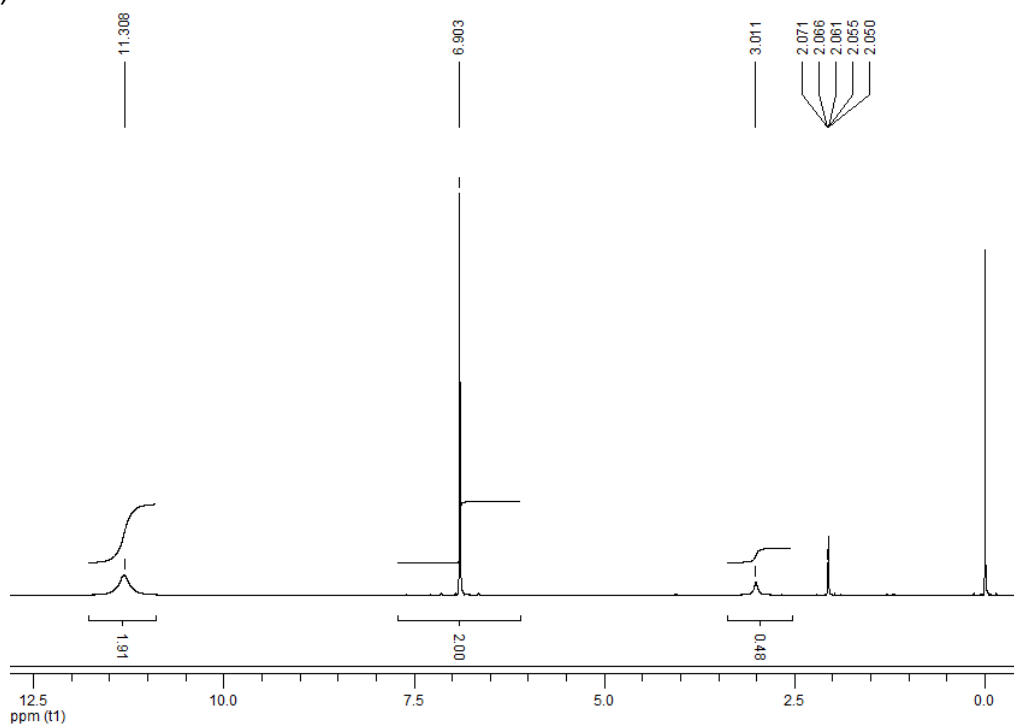


Figura 33. Espectro de hidrogênio em d6-acetona para 2-mercapto-imidazol, Miz.

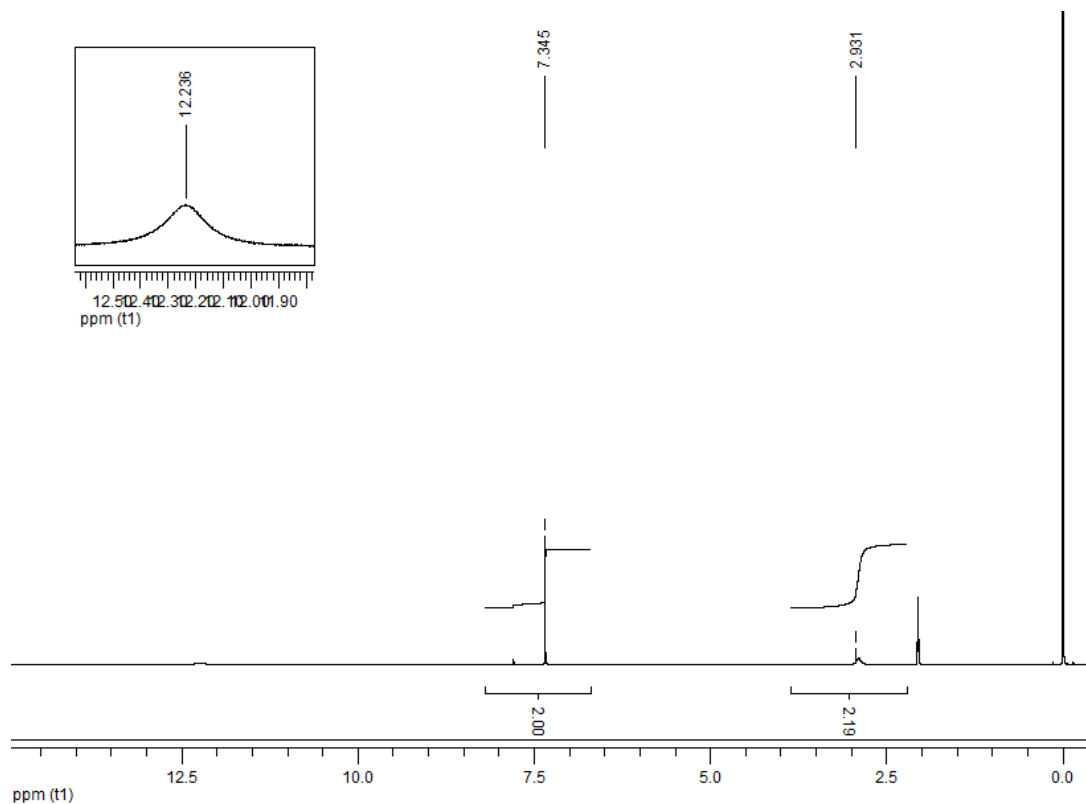


Figura 34. Espectro de hidrogênio em d₆-acetona para o complexo SbCl₂(Miz), (F4).

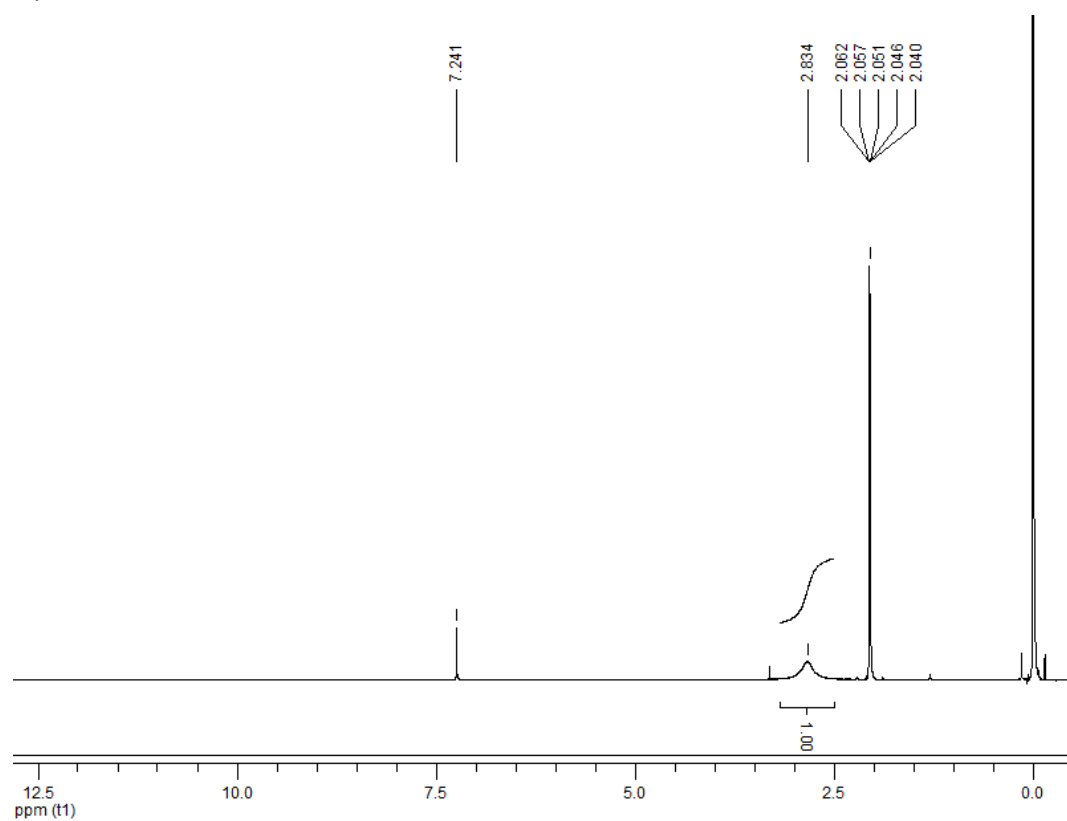


Figura 35. Espectro de hidrogênio em d₆-acetona para BiCl₂(Miz), (B4).

d) Interpretação dos espectros de RMN de carbono para o ligante Miz e os complexos $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$:

A figura 36 a seguir nos apresenta representações para as estruturas químicas para os referentes compostos contendo números nos carbonos a fim de auxiliar na visualização das atribuições dos deslocamentos químicos e encontrar os respectivos valores na tabela 8.

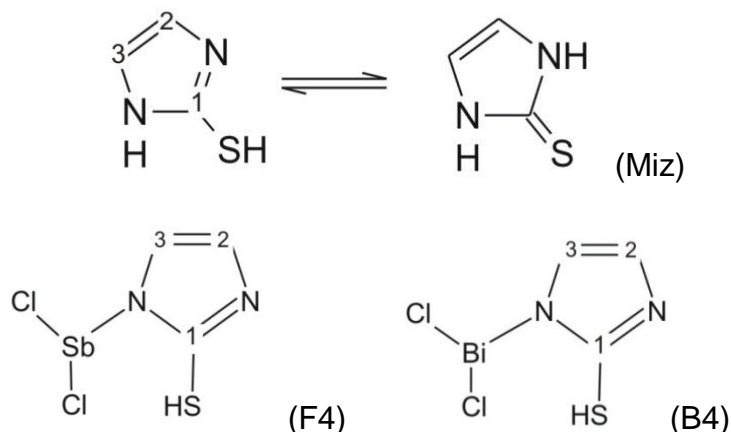


Figura 36. Estruturas com carbonos numerados para Miz, F4 e B4.

Não foram encontrados valores de deslocamento químico na literatura, considerou-se uma comparação somente entre os espectros experimentais.

Tabela 8. Dados experimentais de RMN de carbono em $\text{d}_6\text{-DMSO}$ para Miz, F4 e B4.

Composto	Atribuições	δ ppm experimental
Miz	C1 (imidazol)	160,534
	C2 e C3 (vinílicos)	115,481
F4	C1 (imidazol)	152,593
	C2 e C3 (vinílicos)	118,501
B4	C1 (imidazol)	158,172
	C2 e C3 (vinílicos)	116,181

Notou-se uma leve desblindagem para os carbonos vinílicos dos complexos em relação aos valores obtidos para tais carbonos no ligante, sendo maior para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ do que para o $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$. Percebe-se também que o deslocamento químico para o C1 é menor para os complexos do que para o ligante, ou seja, ele está mais blindado nos complexos. A blindagem que ocorre neste carbono é proveniente da diminuição do efeito indutivo negativo causado pelos nitrogênios, pois quando ocorre a complexação com Sb(III) ou Bi(III) com um dos nitrogênios há diminuição da eletronegatividade exercida sobre o C1.

Observou-se nos espectros de DEPT o desaparecimento do pico referente à C1 permanecendo apenas o pico dos carbonos vinílicos, C2 e C3.

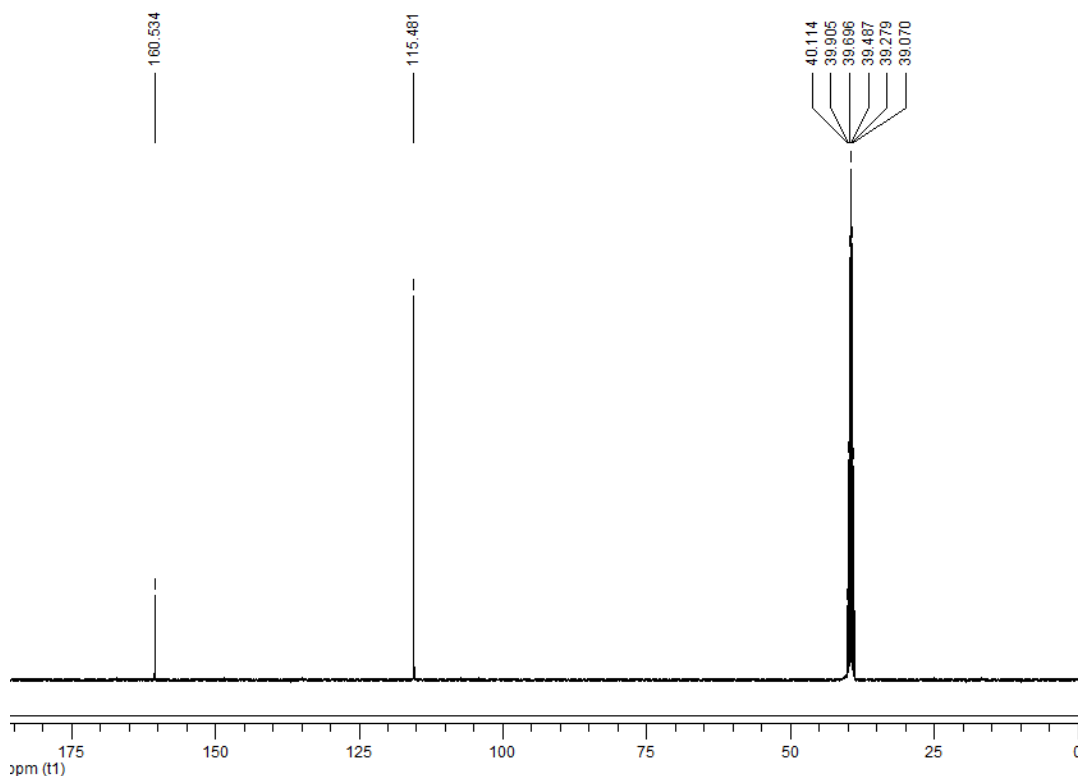


Figura 37. Espectro de carbono em d6-DMSO para o ligante 2-mercaptopimidazol, Miz.

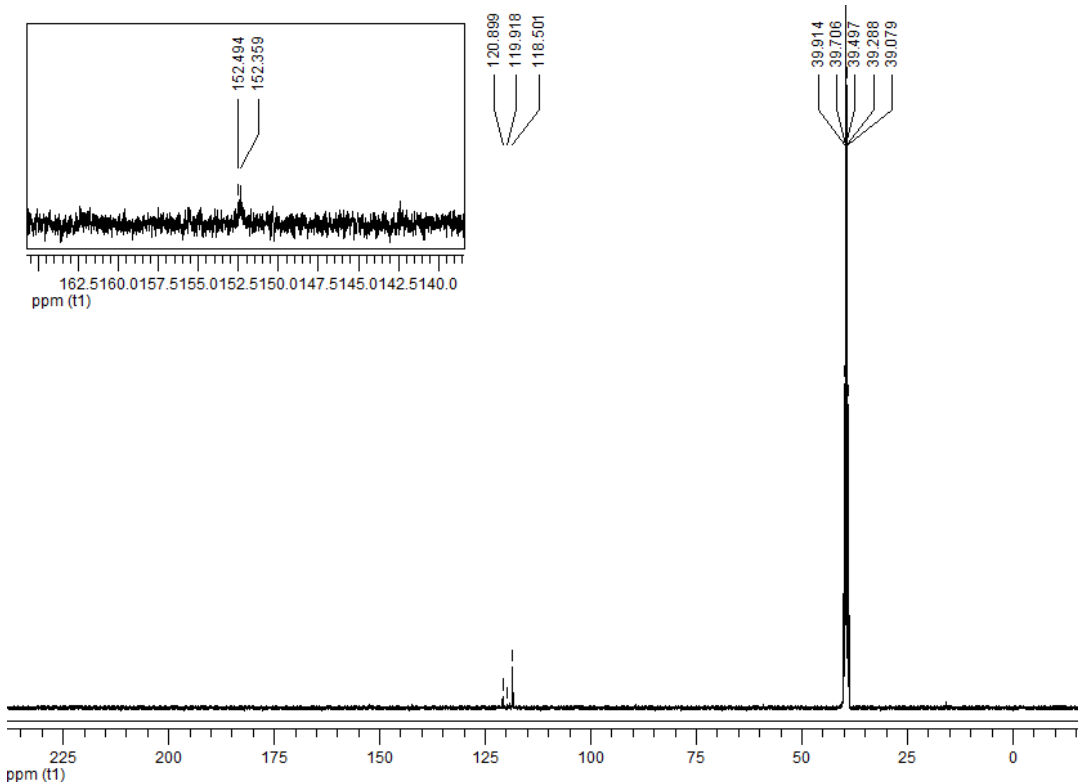


Figura 38. Espectro de carbono em d6-DMSO para o complexo $SbCl_2(Miz)$, (F4).

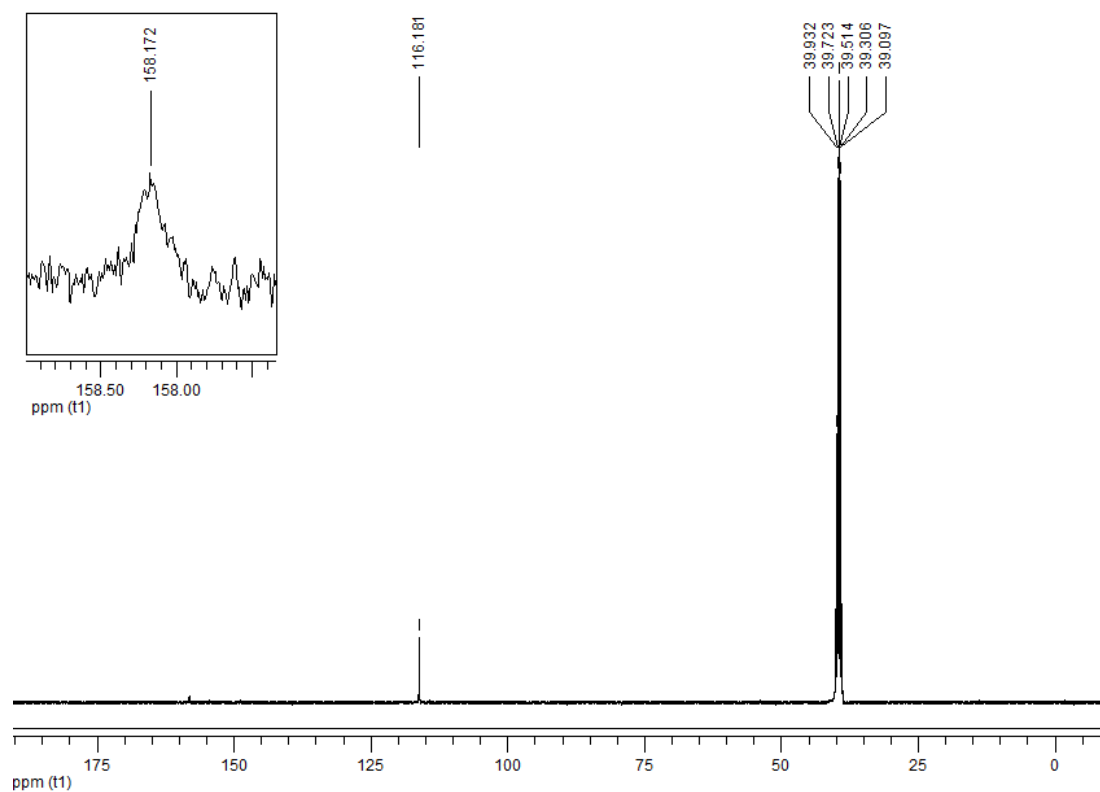


Figura 39. Espectro de carbono em d₆-DMSO para o complexo BiCl₂(Miz), (B4)

A seguir os espectros de DEPT 135 para os complexos sintetizados.

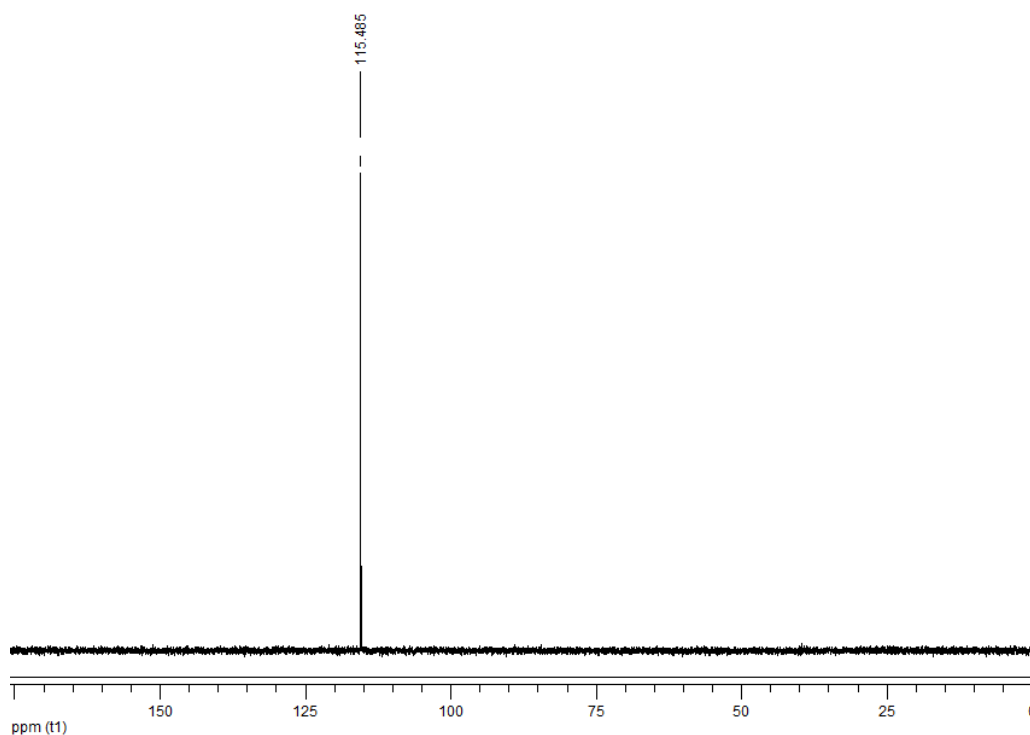


Figura 40. Espectro de DEPT 135 em d₆-DMSO para o ligante 2-mercaptoimidazol, Miz.

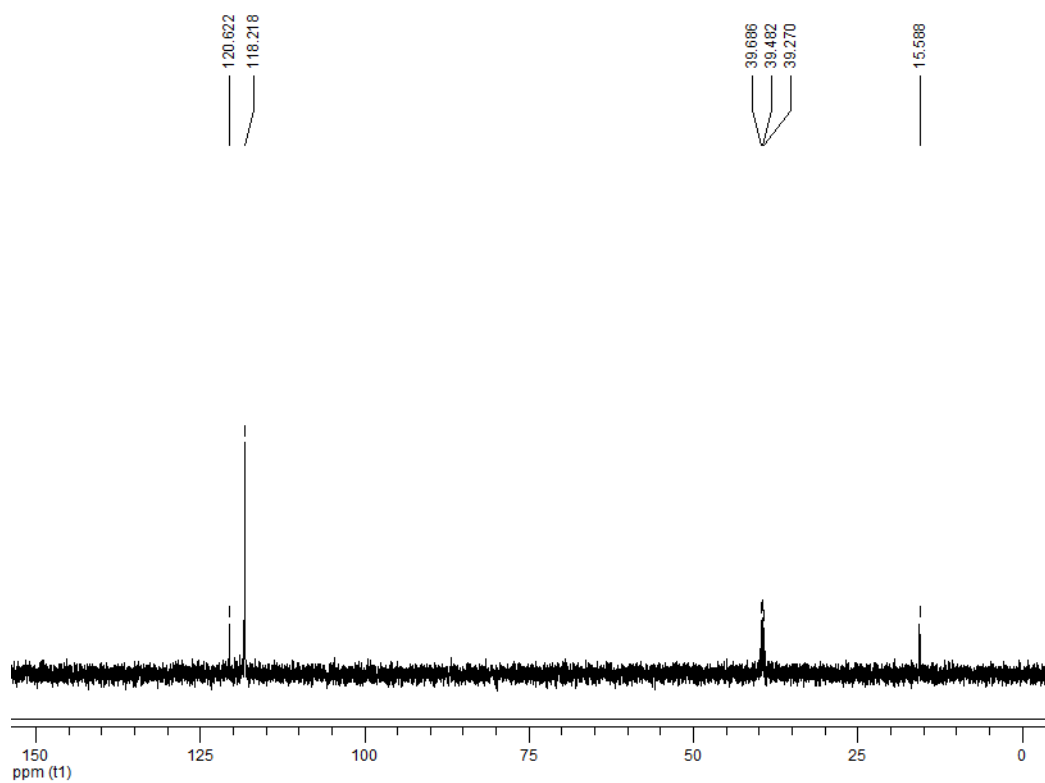


Figura 41. Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).

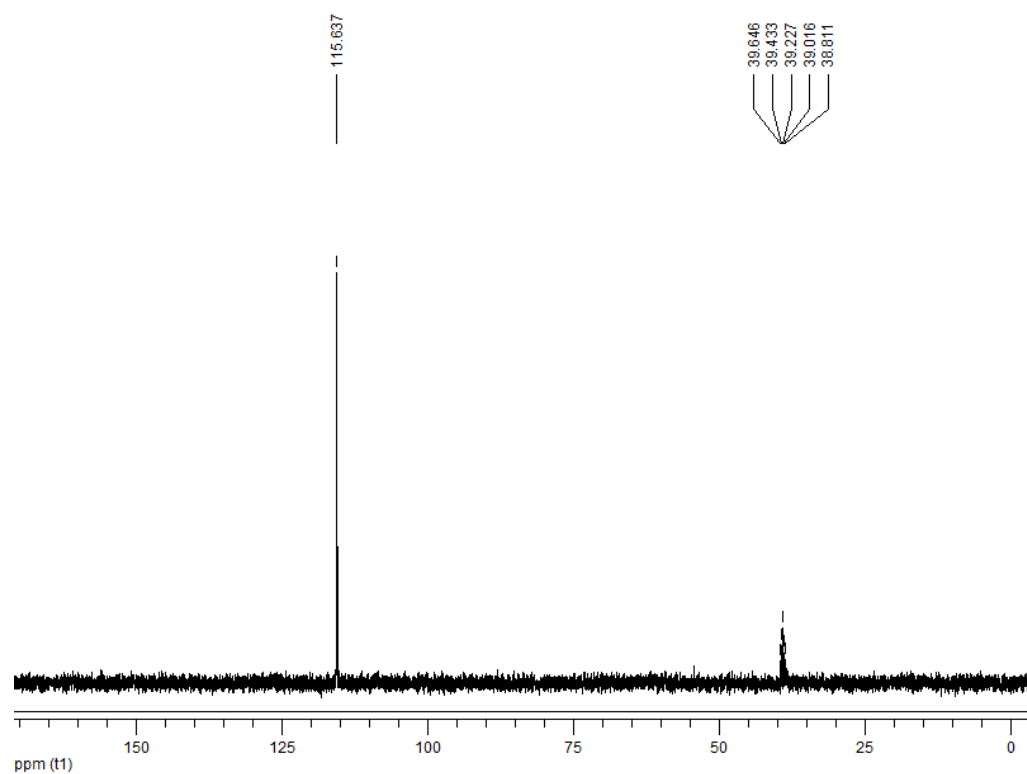


Figura 42. Espectro de DEPT 135 em d6-DMSO para $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).

VI. Análise Elementar:

A análise elementar visa quantificar o percentual que cada elemento possui na composição do composto respectivo em função da massa molar total. Foram feitos CHN de todos os complexos obtidos, utilizando-se amostras cristalinas, sendo que para cada amostra realizou-se a análise em duplicata.

Tabela 9. Valores percentuais de C, H e N, respectivamente, para os complexos sintetizados. Em parênteses o valor teórico calculado.

Composto	% de C		% de H		%de N	
	Experimental	Theoretical	Experimental	Theoretical	Experimental	Theoretical
SbCl(Bzmiz) ₂ .CH ₃ OH	38,16	(37,0)	2,54	(2,87)	12,33	(11,64)
	38,19		2,61		12,33	
SbCl ₂ (Miz)	10,80	(12,34)	1,19	(1,03)	8,04	(9,06)
	11,17		1,27		8,47	
BiCl(Bzmiz).CH ₃ OH	23,19	(22,6)	1,52	(1,88)	7,25	(6,60)
	23,34		1,60		7,36	
BiCl ₂ (Bzmiz).2H ₂ O	17,70	(18,06)	1,72	(1,93)	5,77	(6,02)
	17,24		1,67		5,54	
BiCl ₂ (Miz)	9,58	(10,26)	1,01	(0,85)	7,05	(7,98)
	10,08		0,98		7,06	

Baseando-se nos dados obtidos pela análise elementar e condizentes com a condutimetria, espectroscopia na região do UV-vis e IV, termogravimetria além dos dados obtidos por RMN, pôde-se propor as seguintes representações apresentadas a seguir na figura 43 para cada composto:

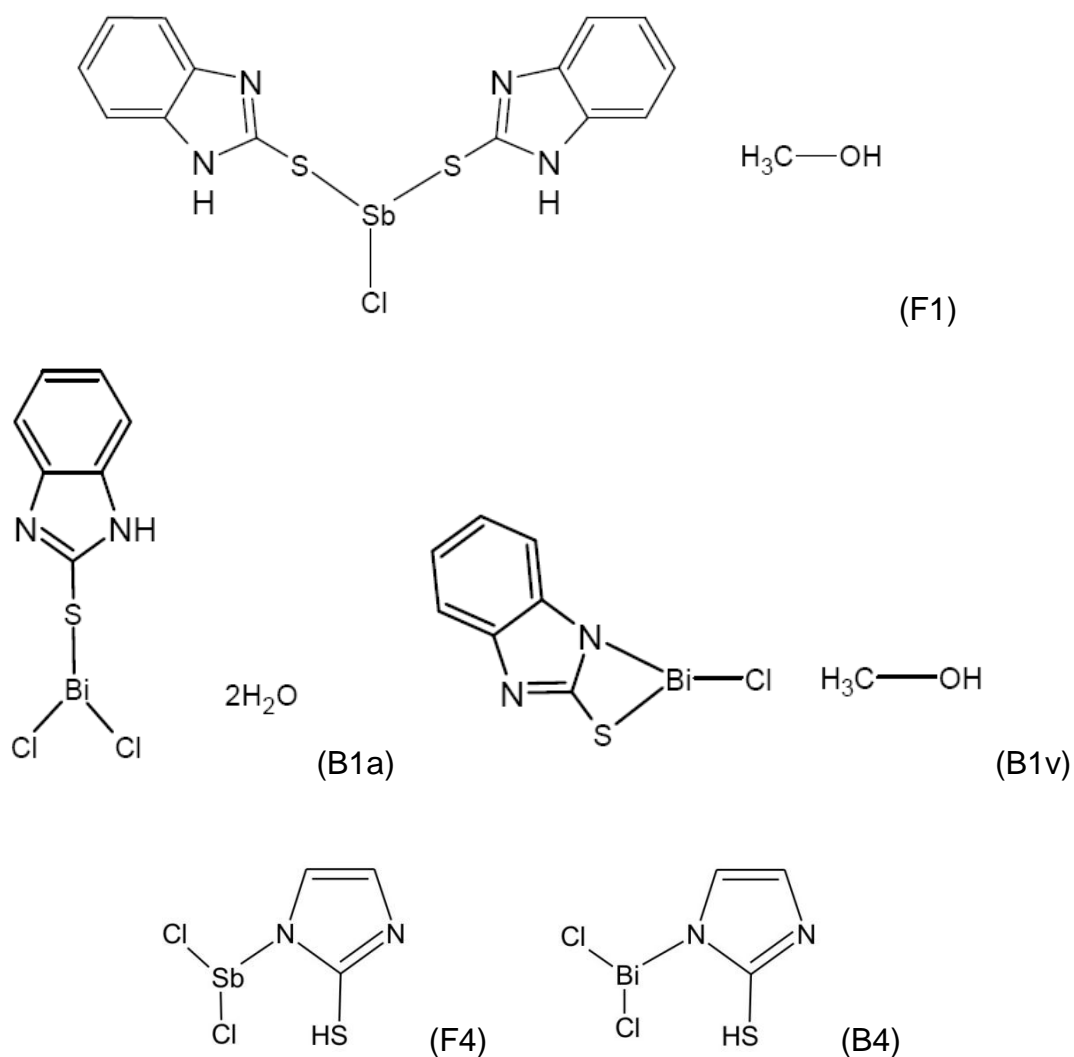


Figura 43. Representações moleculares propostas para os compostos $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$ respectivamente.

Uma outra possibilidade para o B1v, seria a formação de dímeros onde cada Bi(III) estaria ligado ao N de uma molécula do ligante e o S de outra. Essa estrutura só será esclarecida após os resultados da difração de raios x.

VII. Espectroscopia na região do infravermelho:

Os ligantes 2-mercapto-benzimidazol e 2-mercapto-imidazol têm como característica, além do grupo $-\text{SH}$, o fato de serem heterociclos aromáticos e possuírem tautomerismo protônico, como mostra a figura 44 a seguir. O espectro de IV para os ligantes apresentam bandas características de $\nu(\text{S-H})$ em torno de 2300 a 2800 cm^{-1} e $\nu(\text{C=S})$ em 1259 cm^{-1} para Bzmiz e 1270 cm^{-1} para Miz, indicando possível troca protônica rápida o suficiente para que sejam detectadas no estado sólido em ambas as formas tautoméricas.^(39, 40)

O espectro na região do infravermelho para o ligante Bzmiz tem bandas características intensas e agudas na região de 3100 cm^{-1} atribuídas às

vibrações de ν (N-H). Há também duas bandas médias em 1514 cm^{-1} e 1358 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos para ν (C=N) e ν (C-N) respectivamente. ^(41,38)

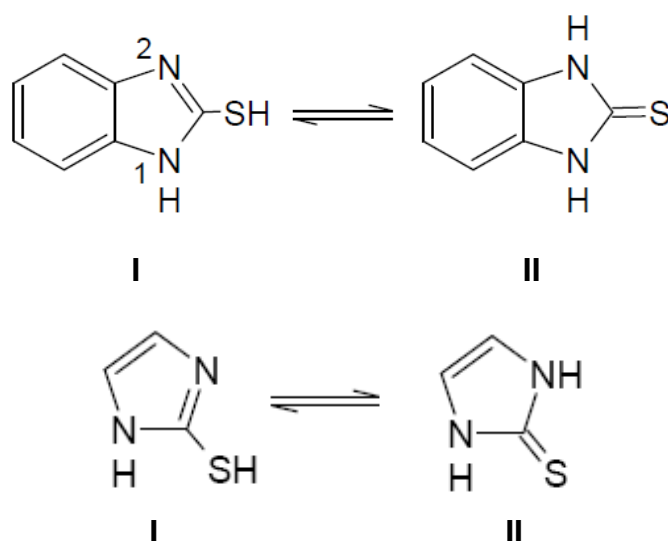


Figura 44. Tautomerismo para os ligantes Bzmiz e Miz respectivamente.

De acordo com a literatura, as bandas referentes às vibrações de deformação axial para a ligação C-S ocorrem entre 700 cm^{-1} e 600 cm^{-1} , porém devido à baixa intensidade e grande variação de posição há pouco valor na determinação das estruturas. ⁽³⁹⁾

A tabela 10 a seguir apresenta os estiramentos atribuídos para diversas bandas nos ligantes utilizados e complexos sintetizados.

Tabela 10. Atribuições de bandas de absorção de IV de maior importância para os ligantes e complexos.

Estiramentos (cm^{-1})	Bzmiz	Miz	F1	F4	B1v	B1a	B4
ν (N-H)	3154, 3117, 3056	3130	3152, 3067	----	----	3186	----
ν (S-H)	2332, 2366	2345, 2370	2332, 2365	2333, 2367	2332, 2366	2332, 2346	2332, 2370
ν (C=N)	1514, 1467	1586, 1560, 1477	1502, 1493	1578, 1561, 1543	1534, 1499, 1451	1508, 1450	1580, 1560, 1542
ν (C-N)	1358, 1340	1226	1349	1364,	1349	1353	1342
ν (C=S)	1260	1267	1250	----	----	----	----
ν (C-S)	744, 713	738, 779	753, 741	764, 753	744	742	776, 752
ν (M-Cl)	---	---	433	474, 459	434	435	468, 460

Nas figuras 45 a 51 a seguir estão ilustrados os espectros na região do infravermelho em pastilhas de KBr para as espécies mencionadas.

Comparando-se os espectros na região do IV de ambos os ligantes em suas formas livres com as complexadas, há suaves diferenças, porém específicas o suficiente para serem discernidas dos ligantes livres. Além disso, há interesse na região de baixa frequência em torno de 450 cm^{-1} a 490 cm^{-1} referente a bandas de estiramento Sb-Cl e Bi-Cl indicando a participação de íons cloreto como ligantes nos compostos complexos formados. ⁽³⁸⁾

O complexo F1 apresenta em seu espectro IV banda de estiramento atribuída no ligante à ν (S-H) em torno de 2332 cm^{-1} e uma outra banda em 1250 cm^{-1} atribuída a ν (C=S) indicando presença de ambas as formas tautoméricas no composto. A complexação com a espécie metálica é monodentada, através do enxofre, como podemos observar através de diminuição no número de onda para as bandas referentes à ν (S-H) e ν (C=S) no complexo em relação ao ligante livre, indicando enfraquecimento das ligações em virtude da ligação S-M. ^(39,42)

Para os complexos B1v e B1a não é evidenciado a banda em 1259 cm^{-1} presente no ligante livre e atribuída a ν (C=S), o que indica que para esses complexos a forma -NH-C(=S)-NH- não é a mais estável, sendo que pode-se observar para ambos banda em torno de 2332 cm^{-1} referente a ν (S-H) indicando que a forma tautomérica -NH-C(SH)=N é a mais estável tanto para B1v quanto B1a. ^(39,40)

Pode-se notar que no estado sólido, F1, B1v e B1a apresentam a banda referente à ν (S-H), enquanto que em soluções, como foi visto anteriormente na ressonância magnética nuclear, tais complexos apresentam desprotonação do grupo -SH . Ambos os métodos espectrométricos apresentam evidências da coordenação através das espécies metálicas pelo enxofre, onde no IV temos enfraquecimento da banda ν (C=S) causado pela formação da ligação S-M e nos espectros de RMN de hidrogênio a ausência do singlete do grupo -SH indicando a desprotonação causada pela coordenação entre S-M.

Para o composto BiCl(Bzmiz) concluiu-se a estrutura de um composto quelato. A fim de visualizarmos qual nitrogênio participa da coordenação com o bismuto formando o quelato em questão, observemos a figura 44, que demonstra o tautomerismo para o ligante 2-mercapto-benzimidazol. Na estrutura I temos um nitrogênio protonado (1) e outro nitrogênio (2) formando dupla ligação com o carbono.

A região de 3100 a 3500 cm^{-1} é atribuída a estiramentos ν (N-H), os quais segundo a literatura⁽⁴¹⁾ desaparecem quando há coordenação entre espécie metálica e o nitrogênio desprotonado, ou seja, a formação do quelato ocorreria através do enxofre e o nitrogênio (1) sem aparições de bandas neste intervalo. No entanto, para BiCl(Bzmiz) essa região também é atribuída à região de estiramento para ν (C-H), os quais também estão presentes devido ao anel aromático em sua estrutura, o que justifica a presença dessas bandas no espectro. ⁽³⁹⁾

Além disso, há bandas muito fortes presentes tanto para o ligante (1514 e 1567 cm^{-1}) quanto para o complexo (1534 , 1499 e 1451 cm^{-1}) sendo atribuídas ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ indicando que a coordenação com o bismuto não se dá através deste nitrogênio; caso contrário o espectro não apresentaria bandas fortes neste intervalo de comprimento de onda. ^(38,40,42)

Outras mudanças importantes são observadas no perfil dos espectros IV para $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$. Notou-se que para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz})$, B1a, há um acréscimo de bandas na região em torno de 3100 cm^{-1} , o que evidencia além de $\nu(\text{C}-\text{H})$ a presença de um grupo NH nesse complexo e sua ausência no quelato $\text{BiCl}(\text{Bzmiz})$, B1v. ^(39,41)

Para os complexos $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$ e $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$ há diminuição de bandas atribuídas a $\nu(\text{N}-\text{H})$, o que condiz com os espectros de RMN de hidrogênio, pois eles indicam a coordenação das espécies metálicas através do nitrogênio anteriormente protonado. Outra evidência de coordenação através do N e não do S se dá ao fato de não haver variações significativas para a banda em 1120 cm^{-1} no ligante livre, onde para F4 temos 1118 cm^{-1} e em B4 temos 1122 cm^{-1} . Coordenações através do metal e o enxofre causariam enfraquecimento da banda presente nessa região, referente à $\nu(\text{C}=\text{S})$. ⁽⁴²⁾

De acordo com demais dados de análise elementar, RMN, CHN e TG, foi possível propor as estruturas dos compostos sintetizados. Dados cristalográficos ainda estão sendo tratados tendo-se concluído com êxito a cristalização dos compostos inéditos F1, B1a, B1v, F4 e B4 e a difração de raios X dos mesmos.

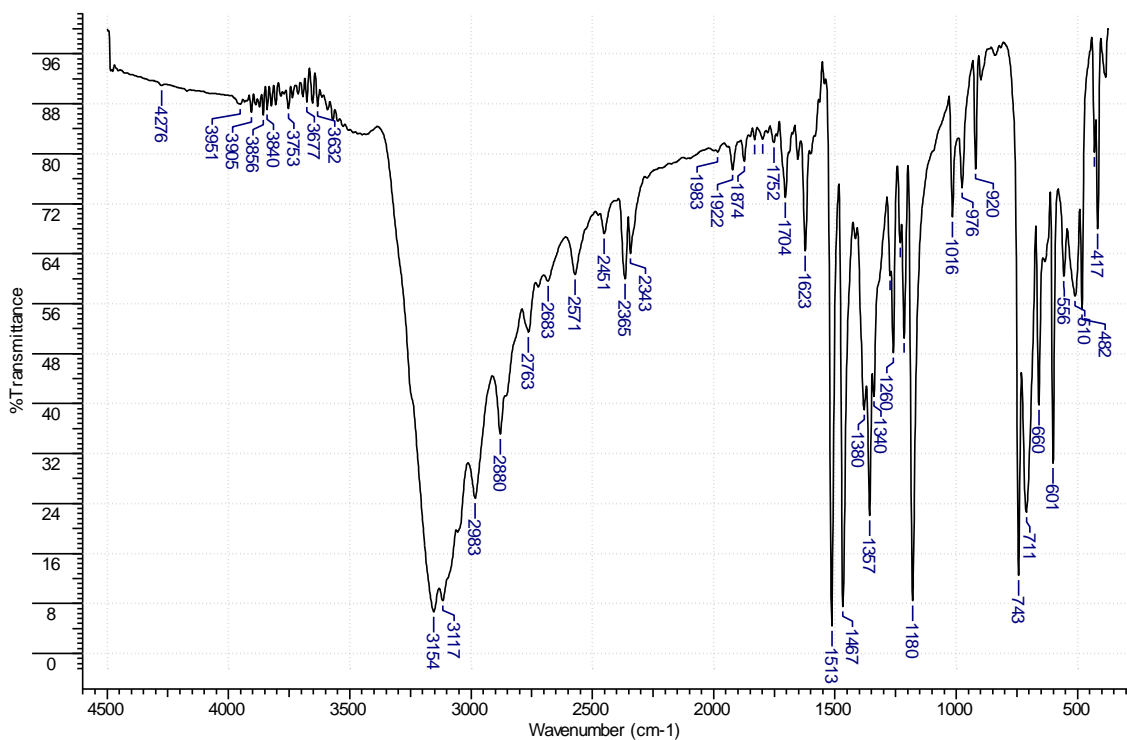


Figura 45. Espectro de IV para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, (Bzmiz).

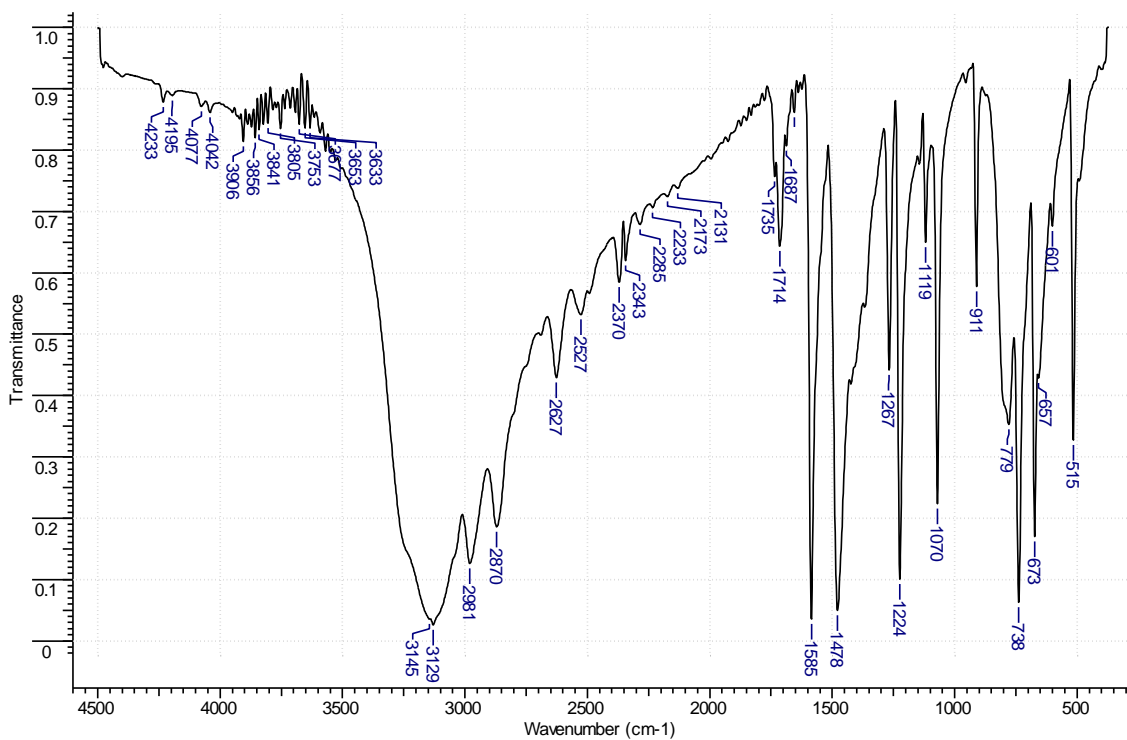


Figura 46. Espectro de IV para o ligante 2-mercapto-imidazol, (Miz).

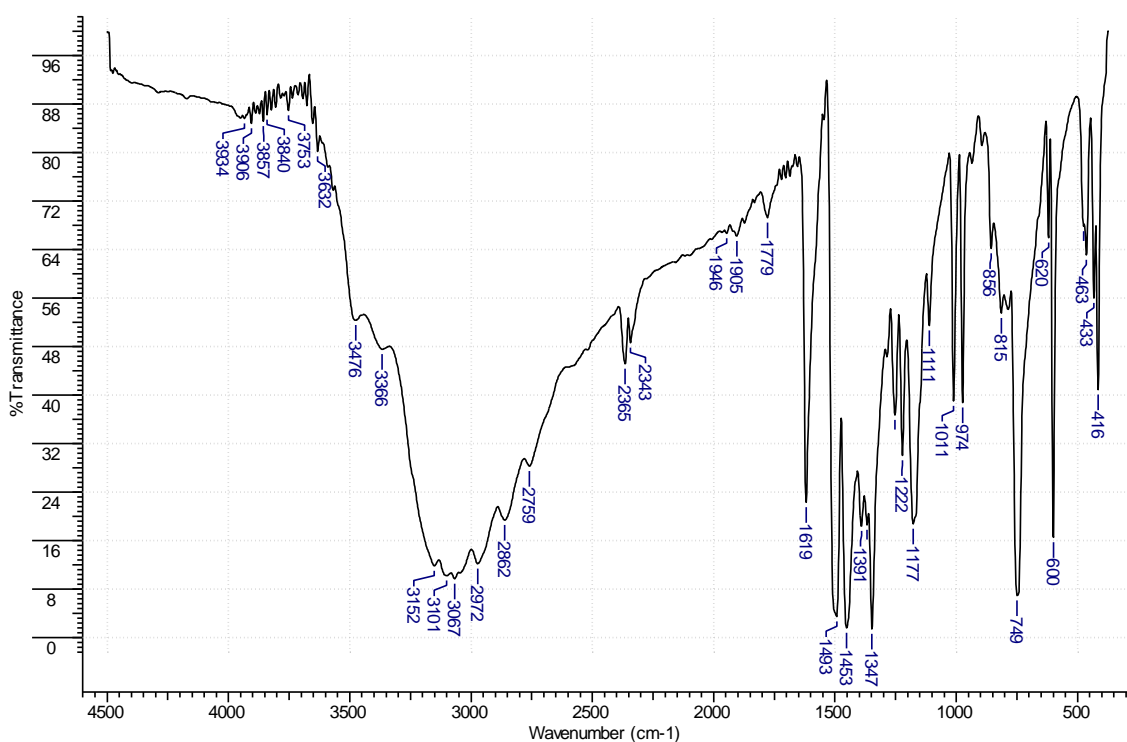


Figura 47. Espectro de IV para o complexo $SbCl(Bzmiz)_2 \cdot CH_3OH$, (F1).

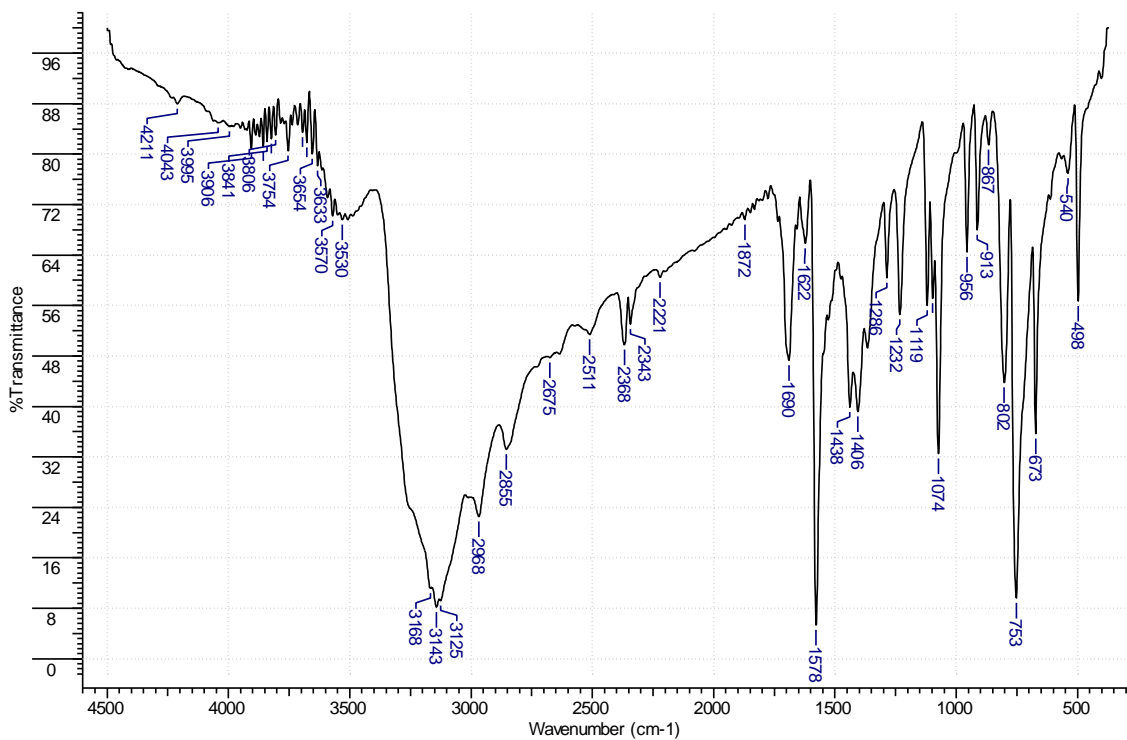


Figura 48. Espectro de IV para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).

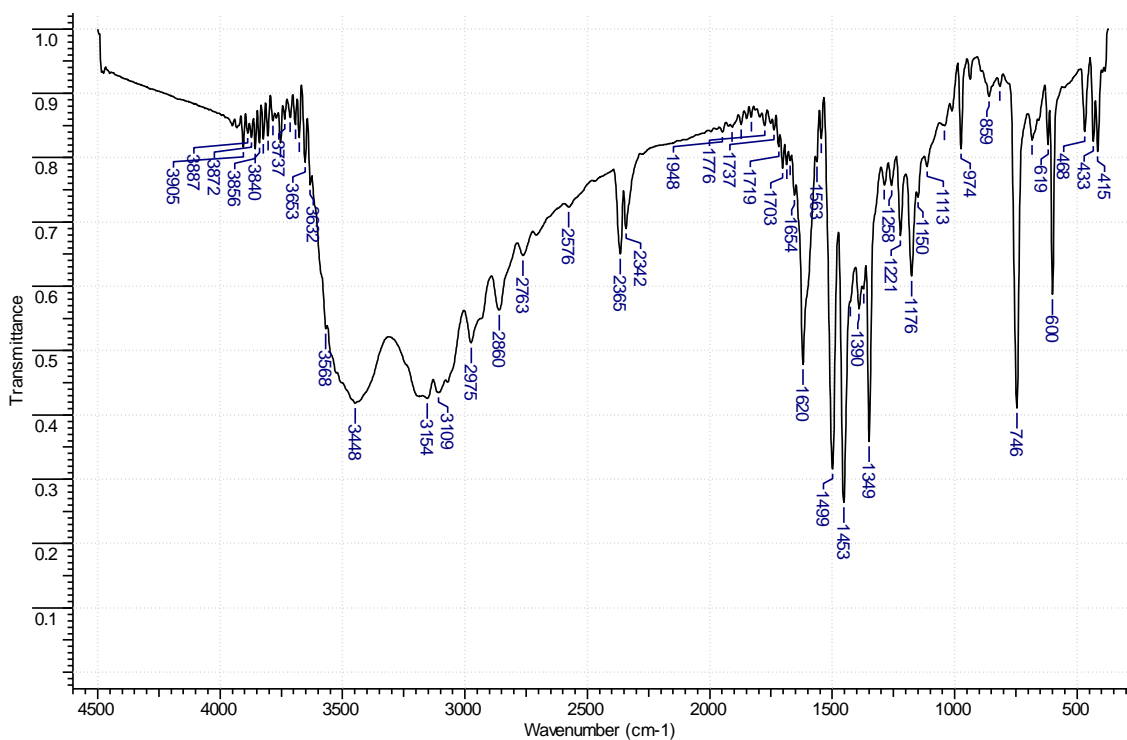


Figura 49. Espectro de IV para o complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).

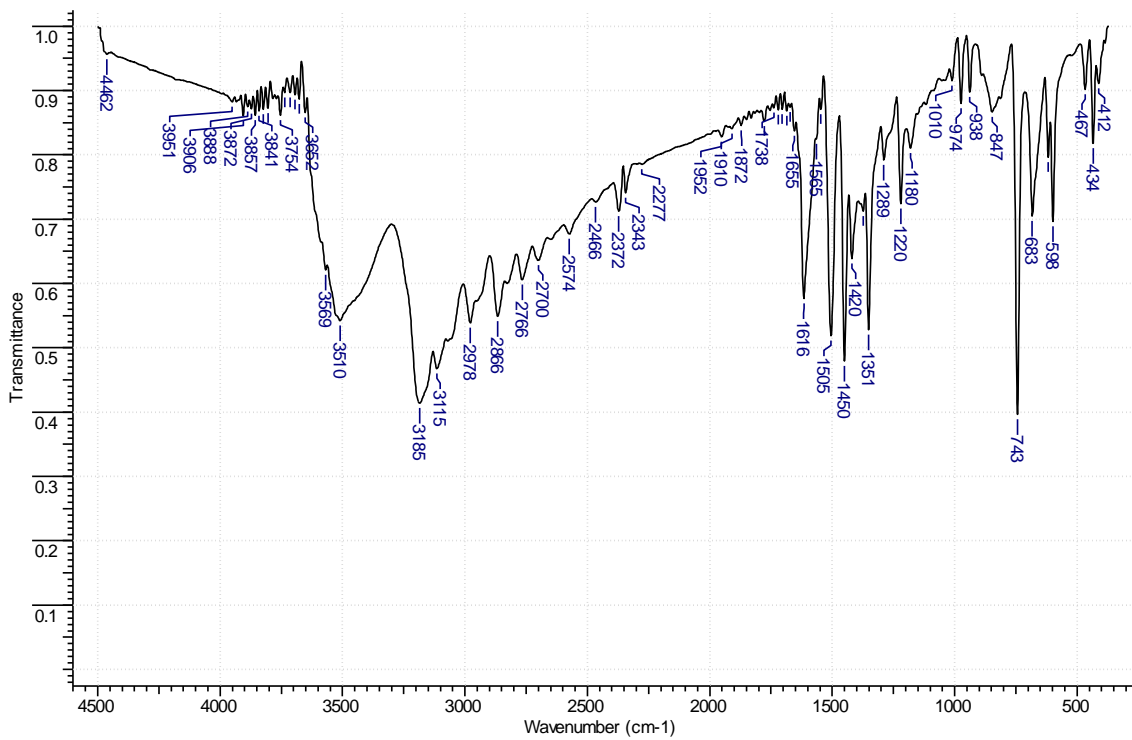


Figura 50. Espectro de IV para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).

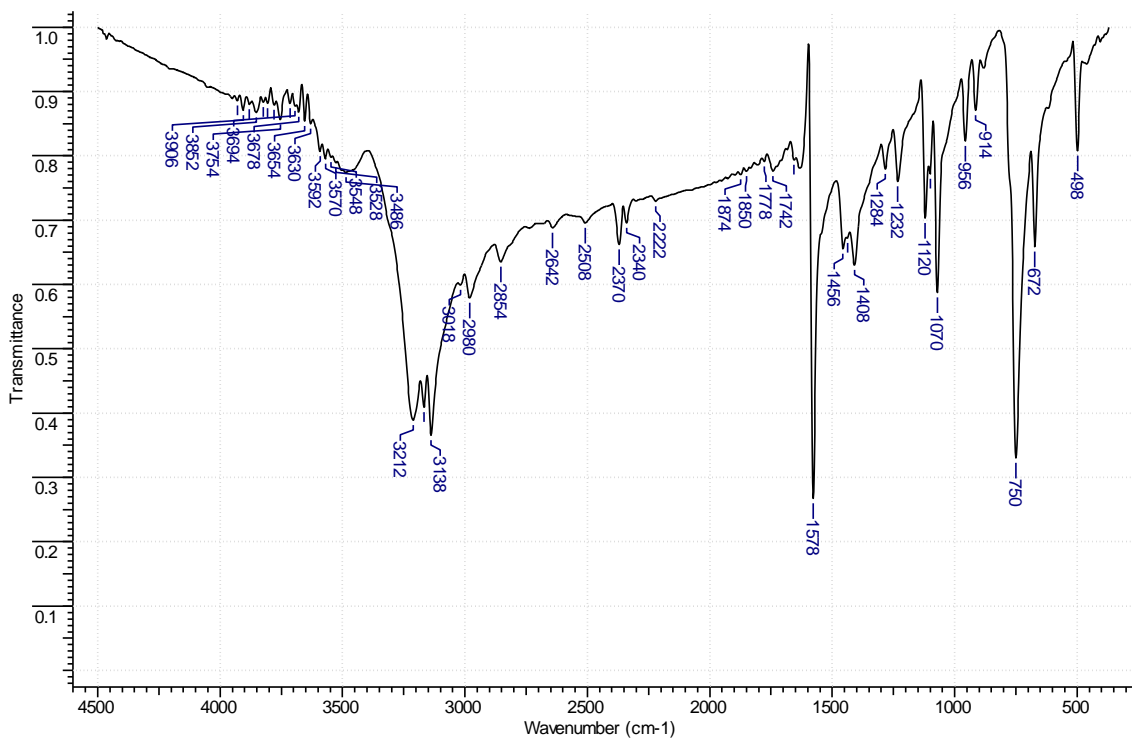


Figura 51. Espectro de IV para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).

VIII. Espectroscopia de Dicroísmo Circular:

A espectroscopia de dicroísmo circular (DC) é aplicada a moléculas quirais. Essa técnica pode ser aplicada para distinguir enantiômeros e para analisar conformações de macromoléculas. ⁽⁴³⁾

Proteínas menores podem sofrer empacotamentos e variações conformacionais rapidamente, portanto, complexos constituídos de proteínas dedo de zinco têm sido estudados com êxito através da espectroscopia de DC, a qual pode ser usada para monitorar possíveis mudanças conformacionais. ⁽⁴³⁾

A figura 52 a seguir apresenta os espectros de dicroísmo circular para o Zn-peptídeo, As-peptídeo e Zn-peptídeo em presença de EDTA em tampão fosfato pH 6,0.

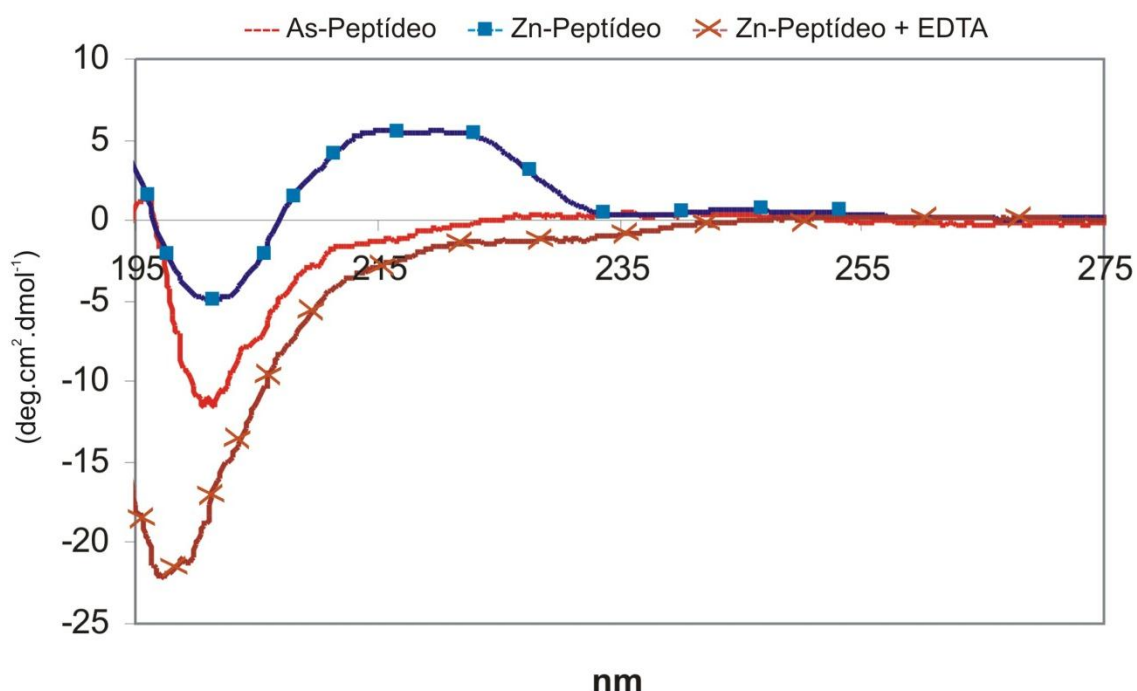


Figura 52. Espectro de DC para Zn-Peptídeo $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; As-Peptídeo $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L e ZnF com adição de [EDTA] $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

O espectro DC para o ZnF apresenta conformação helicoidal destra, ou seja, quiralidade positiva. Uma conformação helicoidal é gerada pela complexação do zinco com os resíduos de cisteínas e histidina presentes na sequência peptídica e é responsável pelo perfil do seu espectro de DC, ou seja, é uma característica intrínseca. Podemos ver que para o As-peptídeo, embora haja coordenação entre o As(III) e a sequência protéica no mesmo sítio de coordenação em que se encontrava coordenado o Zn(II), a conformação é totalmente alterada da obtida para Zn-peptídeo.

De acordo com *Cline, J.D. et al*, regiões helicoidais de proteínas que contém resíduos cisteína, são suscetíveis à desestabilização da estrutura através da ligação com As(III).⁽⁴⁴⁾ Isso ocorre porque tanto As(III) quanto Zn(II) podem se ligar aos grupos tíois das cisteínas. Ao usarmos As(III), promovemos a troca entre esses metais com a consequente modificação da conformação e inativação da proteína.

A formação de pontes dissulfídicas intramoleculares entre os resíduos cisteína presentes nas proteínas também causam mudanças estruturais. Ao adicionarmos EDTA a uma solução de ZnF temos a ejeção do zinco. Logo, a sequência protéica sofrerá oxidação com formação de ponte –S-S– entre as cisteínas, fator que é irreversível.

IX. Espectroscopia de Fluorescência:

A fluorescência é uma característica intrínseca e depende da estrutura molecular do composto em questão. Isso significa que se causando alterações estruturais na molécula, alteramos também suas características físico-químicas, conseqüentemente, mudanças na fluorescência.

No caso de proteínas dedos de zinco, particularmente a do tipo NCp7 do HIV-1, a fluorescência adquirida é proveniente do arranjo espacial gerado pela coordenação do Zn(II) aos domínios CCHC (na proteína NCp7 há dois domínios CCHC), especificamente da posição do resíduo triptofano presente na sequência peptídica (Trp (w) vizinho ao resíduo Cys (C)) como demonstrado na figura 53 a seguir.

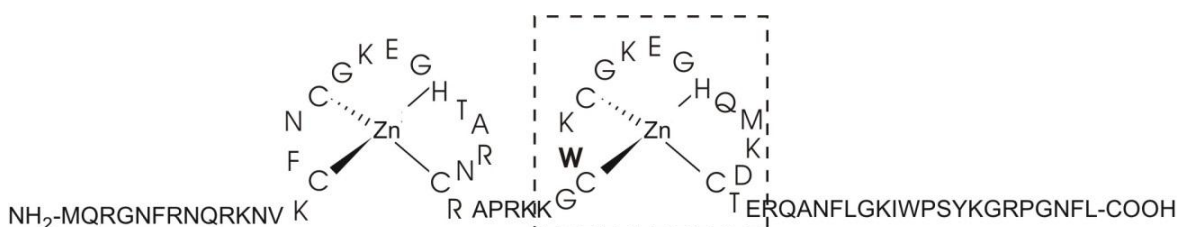


Figura 53. Sequência inteira da proteína nucleocapsídica HIV-1 (NCp7), com o triptofano destacado em negrito.

Utilizamos a espectroscopia de fluorescência para estudarmos a interação entre o dedo de zinco e As(III) bem como sua habilidade de ejeção do zinco. O arsênio quando adicionado à solução de ZnF compete com o zinco ejetando-o e se ligando ao peptídeo. O novo complexo formado entre o peptídeo e a espécie As(III) adquire nova conformação que não é fluorescente. Logo a substituição do zinco pelo arsênio pode ser acompanhada através do apagamento da fluorescência.^(34,44,45)

Foram feitos também ensaios em presença de glutathiona (GSH), a fim de estudar a interação com o ZnF e o As(III) e como sua presença auxilia ou não na ejeção do zinco.

Como pode ser observado na figura 54 a seguir, há distinção de efeitos gerados pela quantidade de glutathiona empregada na titulação de ZnF. O uso de GSH em maior concentração ($1,94 \times 10^{-3}$ mol/L) originou fluorescência inicial maior do que no caso em que foi usado GSH em menor concentração ($1,98 \times 10^{-4}$ mol/L). A glutathiona interage com o ZnF causando esse aumento da fluorescência. Além disso, a razão de diminuição da fluorescência, ou seja, a eficiência de ejeção do zinco pelo As(III) foi maior quando adicionou-se $[GSH]=1,94 \times 10^{-3}$ mol/L, o que demonstra que a presença de glutathiona no meio facilita a incorporação do As(III).

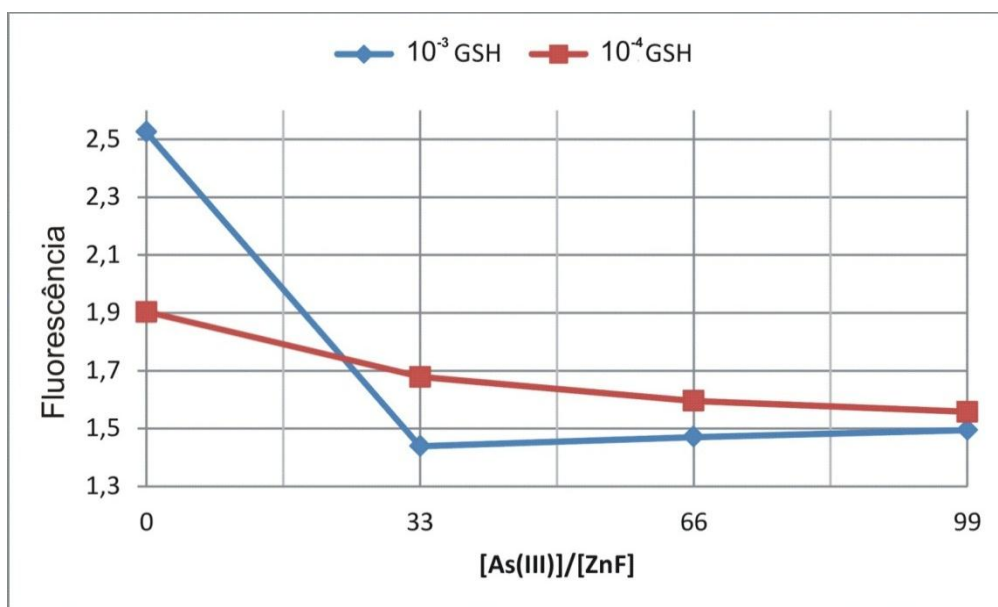


Figura 54. Fluorescência da titulação de uma solução de ZnF com As (III) em tampão fosfato pH 6,0; $[ZnF] 1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; $\lambda_{exc} = 280$ nm ; $\lambda_{em} = 360$ nm .

A estabilidade do complexo de ZnF depende fortemente do pH, diminuindo com o aumento da acidez, o que causa importantes variações na fluorescência.^(34,45) Baseado em tal afirmativa foram realizados ensaios em diferentes valores de pH, como demonstrado na figura 55 a seguir.

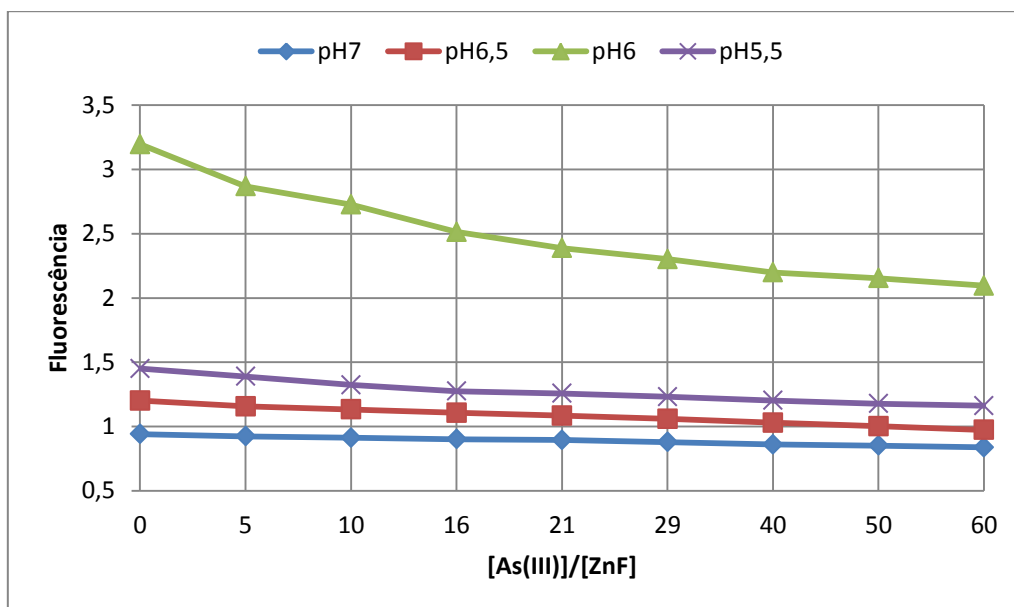


Figura 55. Fluorescência da titulação de uma solução de ZnF com As (III) em diferentes valores de pH; de tampão fosfato; [ZnF] $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; [GSH] $1,94 \times 10^{-3}$ mol/L; $\lambda_{exc} = 280$ nm ; $\lambda_{em} = 360$ nm.

Podemos observar que a fluorescência inicial da solução de ZnF variou de acordo com o pH da solução na seguinte ordem: pH 6 > pH 5,5 > pH 6,5 > pH 7,0. No valor de pH 6 observa-se um maior valor de fluorescência inicial e maior proporção na ejeção do Zn(II) por As(III).

Nos estudos realizados por *Demicheli et al*, ainda não publicados, foi realizada a titulação de solução de ZnF com solução de complexo $As(GSH)_3$ e de acordo com dados de fluorescência e espectrometria massas pôde-se considerar que a incorporação do As(III) é facilitada pela presença da GSH provavelmente através da formação de espécie ternária intermediária.⁽⁴³⁾

O atual trabalho dá continuidade aos estudos já iniciados, a fim de se esclarecer alguns pontos com relação às espécies que favorecem a ejeção do Zn(II) pelo As(III). Porém novos experimentos serão necessários a fim de complementar os estudos. Estudos cinéticos serão necessários, especialmente com espectroscopia de fluorescência e UV-Vis para a finalização do nosso trabalho.

Ao contrário do ensaio de *Demicheli et al*, onde foi adicionado $As(GSH)_3$, os ensaios realizados e apresentados neste trabalho foram feitos com a prévia adição de glutatona à solução de ZnF e posterior titulação com solução de As(III). Para ambos os estudos, tanto na adição prévia de GSH ao ZnF (método i) quanto sua adição na forma de complexo $As(GSH)_3$ (método ii), torna-se muito mais eficiente a cinética da reação de troca de Zn por As.

De acordo com os dados mostrados nos gráficos acima (figuras 54 e 55) e já discutidos, a adição prévia de GSH ao ZnF demonstra haver uma interação entre as espécies, pois o ZnF possui uma fluorescência inicial maior do que em

sua ausência, o que nos leva a sugerir a formação de uma espécie ternária, Zn-GSH-Peptídeo.

Bombarda et al, propuseram um mecanismo de coordenação da espécie Zn(II) com os resíduos CCHC para a proteína nucleocapsídica 7. Segundo seu estudo, a coordenação do zinco se dá inicialmente entre uma cisteína desprotonada e a histidina, tendo o zinco duas moléculas de água coordenadas a ele através de esferas de coordenação externa. Essa etapa é rápida, porém seguida de duas etapas mais lentas, nas quais as moléculas de água são substituídas por coordenação em esferas internas pelas outras duas cisteínas do domínio ainda não coordenadas. Ou seja, o mecanismo apresenta intermediários bidentado, tridentado e o final, tetradentado. ⁽⁴⁵⁾

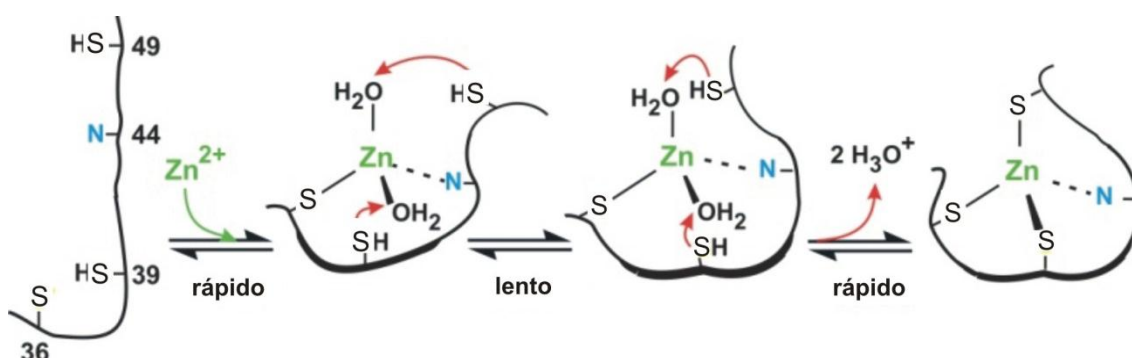


Figura 56. Proposta de mecanismo de coordenação do Zn(II) com domínio CCHC.

Esse mecanismo demonstra a existência de diferentes intermediários em função do pH, tal raciocínio é consistente com o estudo realizado por *Demicheli et al*⁽³⁴⁾, onde foi demonstrado que a substituição do Zn(II) pelo Sb(III) no ZnF depende do pH da solução. Segundo *Fabris, D. et al*, foi determinado uma espécie a qual havia coordenação do zinco com duas cisteínas e a histidina do domínio, ou seja, a espécie tridentada proposta no mecanismo de Bombarda. ^(20,45)

A tabela 11 abaixo resume valores de fluorescência inicial para ensaios nos quais foi adicionado glutathiona simultaneamente ao ZnF e para o ensaio no qual adicionou-se somente ZnF.

Tabela 11. Valores para fluorescência inicial em adição simultânea ou não de ZnF e GSH em diversos valores de pH para o tampão fosfato.

pH do tampão	Fluorescência inicial para ZnF + GSH	Fluorescência inicial para ZnF
5,5	1,20	2,86
6,0	3,20	2,04
6,5	1,45	---
7,0	0,94	1,12

Nota-se que quando a adição de glutathiona não é simultânea ao ZnF há um menor valor de fluorescência inicial para o pH 6,0 e a posterior adição de GSH não reverte o quadro (Figura 58) devido a oxidação do ZnF.

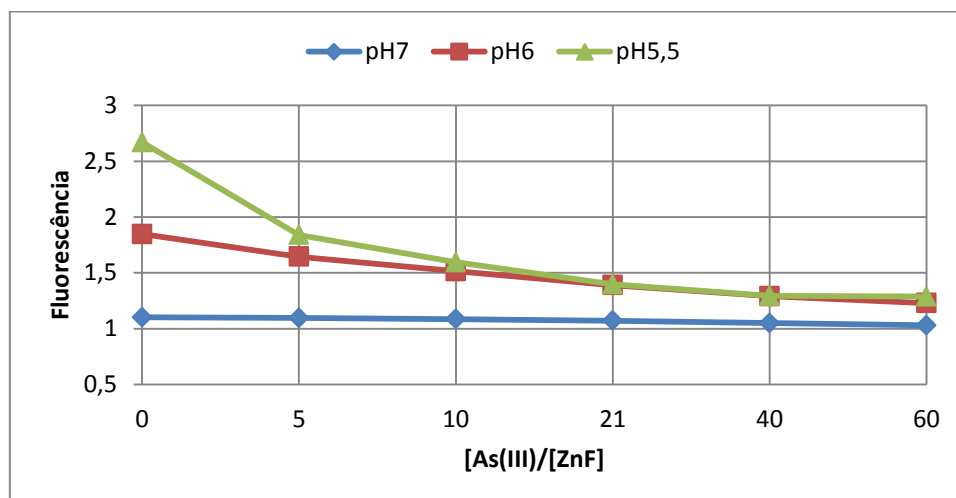


Figura 57. Fluorescência da titulação de uma solução de ZnF com As (III) em diferentes valores de pH de tampão fosfato; com adição posterior de [GSH] $1,94 \times 10^{-3}$. $[ZnF] = 1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; $\lambda_{exc} = 280$ nm ; $\lambda_{em} = 360$ nm.

No caso de formação de Zn-GSH-Peptídeo, a glutathiona pode atuar como base de Lewis interagindo com a espécie Zn(II), originando um novo intermediário no qual o zinco não seria tetracoordenado ao domínio CCHC, causando uma espécie termodinamicamente menos estável que a tetracoordenada, o que justificaria o efeito da GSH em potencializar a ejeção do zinco e consequente substituição pelo As(III).

Nossos futuros experimentos visam realizar um estudo por espectrometria de massas para soluções de ZnF em presença de glutathiona, a fim de se confirmar a formação da espécie Zn-GSH-Peptídeo e tornar mais consistente a hipótese da importância dessa espécie nos mecanismos de substituição do zinco nas proteínas ZnF.

Conclusões

O trabalho apresentou a síntese e caracterização físico-química de cinco compostos inéditos de antimônio (III) e bismuto (III) com ligantes 2-mercapto-imidazol e 2-mercapto-benzimidazol.

As análises espectrométricas indicaram que ocorre complexação através do átomo de enxofre para os complexos com 2-mercapto-benzimidazol e através do nitrogênio para os complexos com 2-mercapto-imidazol. A coordenação com as espécies metálicas Sb(III) e Bi(III) causaram modificações em algumas propriedades características dos ligantes, que puderam ser constatadas através das espectroscopias na região do ultravioleta visível e infravermelho além de ressonância magnética nuclear.

Os ligantes são insolúveis em água, porém solúveis em dimetilsulfóxido, característica importante visto que se trata de um solvente muito utilizado em testes biológicos. Serão realizados futuramente testes biológicos para os complexos sintetizados bem como a caracterização de suas estruturas através da difração de raios X.

O trabalho também apresentou resultados com respeito à interação do As(III) com a proteína nucleocapsídica do HIV-1 (NCp7) com ejeção do zinco e mudança de conformação da proteína. O estudo também abrange a dependência do pH e a influência e participação da glutathione como biomolécula que favorece a ejeção do Zn em proteínas ZnF. São necessários maiores estudos para a confirmação da espécie ternária Zn-GSH-peptídeo, embora os ensaios realizados até o momento indiquem algumas evidências de sua existência.

Os resultados obtidos fornecem novas perspectivas de elucidação de alguns mecanismos de ação, ainda não bem compreendidos, de drogas a base de metais.

Referências Bibliográficas

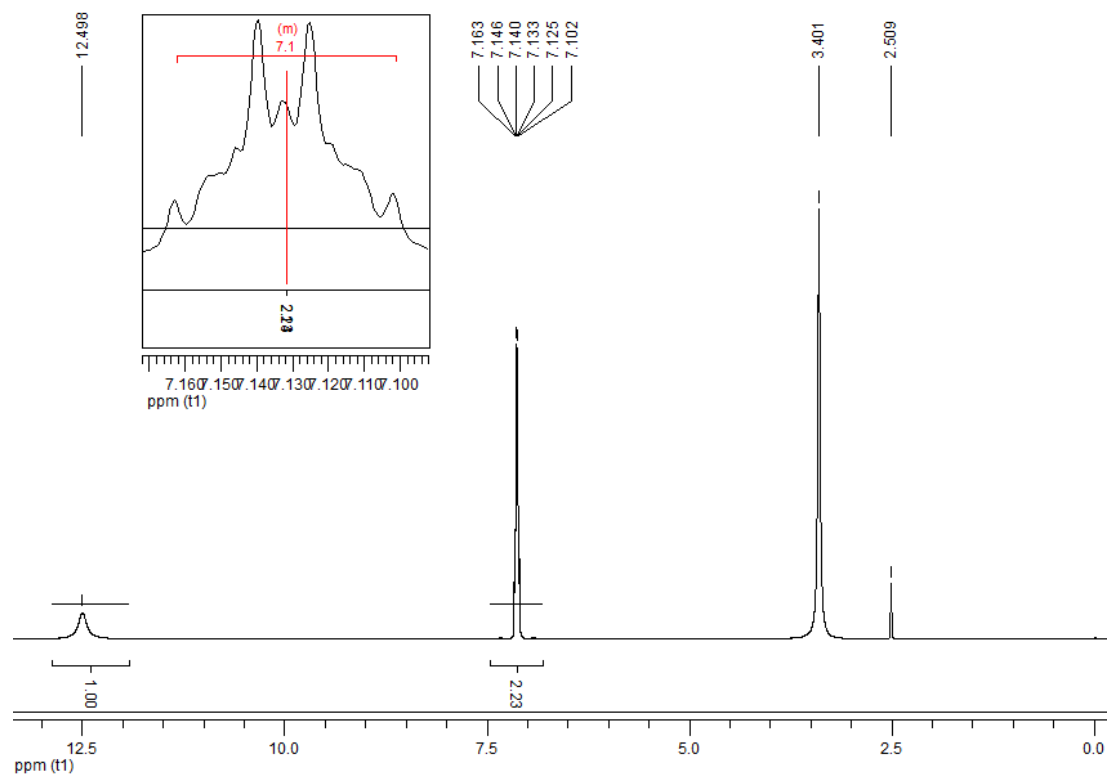
- 1- Russel, J.B., Química Geral, Ed. McGraw-Hill, (1982).
- 2- Fonseca, M. R. M.; Química Orgânica, Ed. FTD, (1992).
- 3- Lee, J.D.; Química Inorgânica não tão Concisa, Ed. Edgard Bucher LTDA. (1998).
- 4- Jones, C.J. A química dos Elementos dos blocos *d* e *f*, Ed. Bookman, (2002).
- 5- Demicheli, C.; Frézard, F.; Cadernos Temáticos Química Nova na escola: Antimônio no tratamento de zoonoses. (2006).
- 6- Frézard, F.; Demicheli, C.; Ribeiro, R.R.; Pentavalent Antimonials: New Perspectives for Old Drugs, *Molecules*, 14, (2009), 2317-2336.
- 7- Frézard, F.; Schettini D.A.; Rocha, O.G.F.; Demicheli, C.; Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. *Quim. Nova*, 28, (2005), 511-518.
- 8- Pankaj S, Perez, D., Cabrera, A., Rosas, N., Arias J.L., *Perspectives of antimony compounds in oncology*, *Acta Pharmacol Sin* 29, (2008), 881–890.
- 9- Frezard, F.; Demicheli, C.; Ferreira, C. S.; Costa, M. A. P. *Glutathione-induced conversion of pentavalent antimony to trivalent antimony in meglumine antimoniate*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, (2001), 913.
- 10- Lee MB; Gilbert HM.; *Current approaches to Leishmaniasis*, *Infect Med* 16, (1999); 37–45.
- 11- Demicheli C, Frézard F, Lecouvey M, Garnier-Suil lerot A., *Antimony(V) complex format ion with adenine nucleosides in aqueous solution*. *Biochim Biophys Acta* 1570, (2002); 192.
- 12- GE, R.; SUN, H.; *Bioinorganic Chemistry of Bismuth and Antimony: Target Sites of Metallodrugs*, *Acc. Chem. Res.* 40, (2007), 267-274.
- 13- Ferreira,C.S.; Martins, P.S.; Demicheli,C.; Brochu,C.; Ouellette, M.; Frézard, F.;Thiol-induced reduction of antimony(V) into antimony(III): A comparative study with trypanothione, cysteinyl-glycine, cysteine and glutathione, *Biometals*, 16, (2003), 441.
- 14- Zhou, Y.; Messier, N.; Ouellette, M.; Rosen, B. P.; Zilberstein, D. *Leishmania major LmACR2 is a pentavalent antimony reductase that confers sensitivity to the drug pentostam*. *J. Biol. Chem.*, 279, (2004), 37445.
- 15- Barra, C.M.; Santelli, R.E., Abrão, J.J.; De La Guardia, M.; *Especiação de Arsênio; Uma revisão*, *Quím. Nova*, 23, (2000), 1-13.

- 16- Patterson T. J, Ngo M., Aronov P.A, Reznikova T.V, Green P. G., Rice R.H., *Biological Activity of Inorganic Arsenic and Antimony Reflects Oxidation State in Cultured Human Keratinocytes*, *Chem. Res. Toxicol.* **16**, (2003), 1624-1631.
- 17- Xiao-Wei Zhang, Xiao-Jing Yan, Zi-Ren Zhou, Fei-Fei Yang, Zi-Yu Wu, Hong-Bin Sun, Wen-Xue Liang, Ai-Xin Song, Valérie Lallemand-Breitenbach, Marion Jeanne, Qun-Ye Zhang, Huai-Yu Yang, Qiu-Hua Huang, Guang-Biao Zhou, Jian-Hua Tong, Yan Zhang, Ji-Hui Wu, Hong-Yu Hu, Hugues de Thé, Sai-Juan Chen, and Zhu Chen, *Arsenic Trioxide Controls the Fate of the PML-RAR α Oncoprotein by Directly Binding PML*, *Science*, 328.
- 18- Cun, S.; Sun, H. A zinc binding site by negative selection induces metalloprotein susceptibility in an essential chaperone" *PNAS Early Edition*, **107**, (2010), 4943-4948.
- 19- Fabris, D.; Hathout, Y.; Fenselau, C.; Investigation of Zinc Chelation in Zinc Finger Arrays by Electrospray Mass Spectrometry, *Inorg. Chem.* **38**, (1999), 1322-1325.
- 20- Fabris, D.; Zaia, J.; Hathout, Y.; Fenselau, C.; Retention of Thiol Protons in Two Classes of Protein Zinc Ion Coordination Centers, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, (1996), 12242-12243.
- 21- Dhanasekaran, M.; Negi, S.; Sugiura, Y.; Designer Zinc Finger Proteins: Tools for Creating Artificial DNA-Binding Functional Proteins, *Acc. Chem. Res.* **39**, (2006), 45-52.
- 22- Brayer, K.J.; Segal, D.J.; Keep Your Fingers Off My DNA: Protein-Protein Interactions Mediated by C₂H₂ Zinc Finger Domains, *Cell Biochem Biophys*, **50**, (2008), 111-131.
- 23- Kriwacki, R.W.; Schultz, S.C.; Steitz, T.A.; Caradonna, J.P.; Sequence-specific recognition of DNA by zinc-finger peptides derived from the transcription factor Spl, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **89**, (1992), 9759-9763.
- 24- Narayan, V.A.; Kriwacki, R.W.; Caradonna, J.P.; Structures of Zinc Finger Domains from Transcription Factor Spl: INSIGHTS INTO SEQUENCE-SPECIFIC PROTEIN-DNA RECOGNITION, *The Journal of Biological Chemistry*, **272**, (1997), 7801-7809.
- 25- Mineta, Y.; Okamoto, T.; Takenaka, K.; Doi, N.; Aoyama, Y.; Sera, T.; Enhanced Cleavage of Double-Stranded DNA by Artificial Zinc-Finger Nuclease Sandwiched between Two Zinc-Finger Proteins, *Biochemistry*, **47**, (2008), 12257-12259.
- 26- Lee, J.; Kim, K.S.; Seok, C.; Cooperativity and Specificity of Cys²His² Zinc Finger Protein-DNA Interactions: A Molecular Dynamics Simulation Study, *J. Phys. Chem. B*, **114**, (2010), 7662-7671.

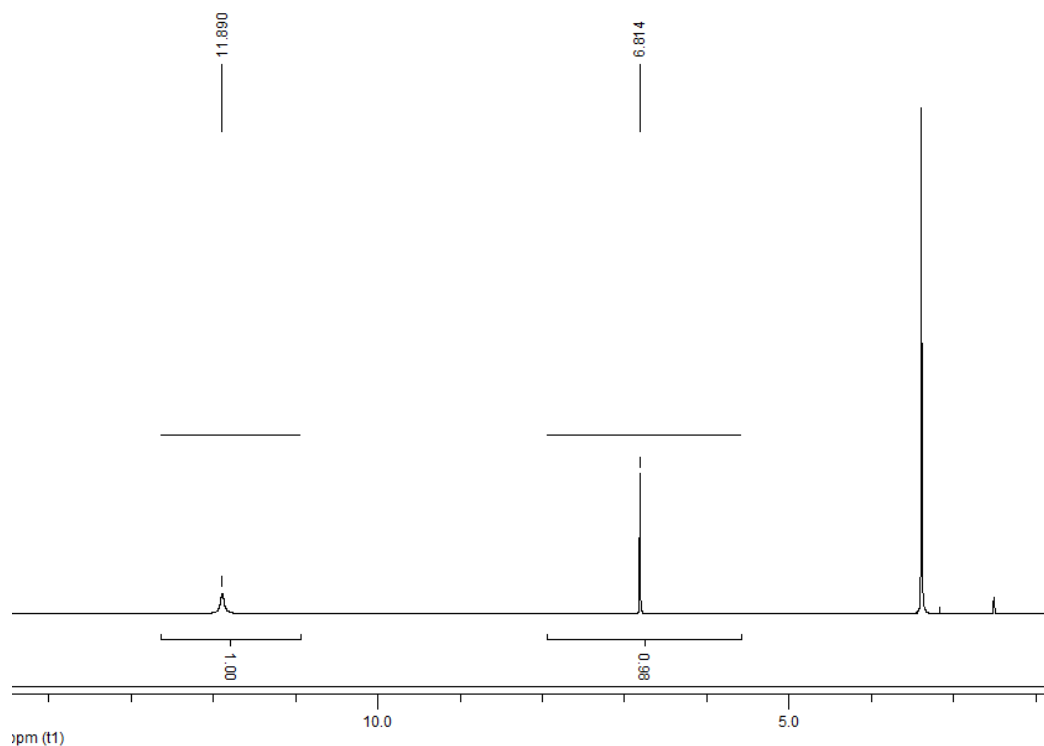
- 27- Lin, S.; Riggs, A. D.; J. Mol. Biol. 72, (1972), 671-690.
- 28- Huang, M.; Maynard, A.; Turpin, J.A.; Grahan, L.; Janini, G.M.; Covell, D.G.; Rice, W.G.; Anti-HIV Agents That Selectively Target Retroviral Nucleocapsid Protein Zinc Fingers without Affecting Cellular Zinc Finger Proteins, *J. Med. Chem.* X 41, (1972), 1371-1381.
- 29- Liu-Johnson, H. N.; Gartenberg, M. R.; Crothers, D. M.; Cell, 47, (1986), 995-1005.
- 30- Lee, S.J.; Michel, S.L.J.; Cysteine Oxidation Enhanced by Iron in Tristetraprolin, A Zinc Finger Peptide, *Inorg. Chem.* 49, (2010), 1211–1219.
- 31- Rice, W. G.; Supko, J. G.; Malspeis, L.; Clanton, D. J.; Bu, M.; Graham, L.; Schaeffer, C. A.; Turpin, J. A.; Domagala, J.; Gogliotti, R.; Bader, J. P.; Halliday, S. M.; Coren, L.; Arthur, L. O.; Henderson, L. E.; Buckheit, R. W., Jr.; Novel inhibitors of HIV-1 p7NC zinc fingers as candidates for the treatment of AIDS.; *Science* 270, (1995), 1194-1197.
- 32- Gartenberg, M. R.; Ampe, C.; Steitz, T. A.; Crothers, D. M.; *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87, (1990), 6034-6038.
- 33- Vandeveld, M.; Witvrouw, M.; Schmit, J. C.; Sprecher, S.; De Clercq, E.; Tassignon, J. P. ADA, a potential anti-HIV drug. *AIDS Res. Hum. Retrovir.*; 12, (1996), 567-568.
- 34- Demicheli, C.; Frézard, F.; Mangrum, J.B.; Farrell, N.P.; Interaction of trivalente antimony with a CCHC zinc finger domain: potential relevance to the mechanism of action of antimonial drugs.; *Chem. Comm.* (2008), 4828-4830.
- 35- Índice de polaridade de solventes:
www.chemicalecology.net/java/solvents.htm
- 36- Geary, J.W.; *Chemistry Coordination Review*, 7, (1971), 81.
- 37- Huheey E.J.; Keiter E.A.; Keiter, R.L.; *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, 4th Edition.
- 38- Farukh Arjmand, Mubashira Aziz, Synthesis and characterization of dinuclear macrocyclic cobalt(II), copper(II) and zinc(II) complexes derived from 2,2,20,20-S,S[bis(bis-N,N-2-thiobenzimidazolyloxalato-1,2-ethane)]: DNA binding and cleavage studies, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, (2009), 844.
- 39- Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J.; *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 7^a edição, Ed. LTC.

- 40- Kahn, E.S.; Rheingold, A.L.; Shupack, A.I.; Synthesis and properties of Palladium (II) complexes with sulfur ligands, *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research*, 23, (1993), 697.
- 41- Nakamoto, Kazuo, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds* 5th Edition, Ed.Wiley Interscience.
- 42- Jolley, J.; Cross, W.I.; Pritchard, R.G.; McAuliffe, C.A.; Nolan, K.B.; Synthesis and characterisation of mercaptoimidazole, mercaptopyrimidine and mercaptopyridine complexes of platinum(II) and platinum(III): The crystal and molecular structures of tetra(2-mercaptobenzimidazole)- and tetra(2-mercaptoimidazole)platinum(II) chloride, *Inorganica Chimica Acta*, 315, (2001), 36.
- 43- Kelly, S.M.; Jess, T.J.; Price, N.C.; How to study proteins by circular dichroism, *Biochimica et biophysica ACTA*, 1751, (2005), 119.
- 44- Cline, J.D.; Thorpe, C.; Schneider, J.P.; Effects of As(III) Binding on α -Helical Structure, *Journal of American Chemical Society*, 125, (2003), 2923.
- 45- Bombarda, E.; Grell, Y.E.; Roques, B.P.; Mély, Y.; Molecular Mechanism of the Zn^{2+} -Induced Folding of the Distal CCHC Finger Motif of the HIV-1 Nucleocapsid Protein, *Biophysical Journal*, 93, (2008), 208.

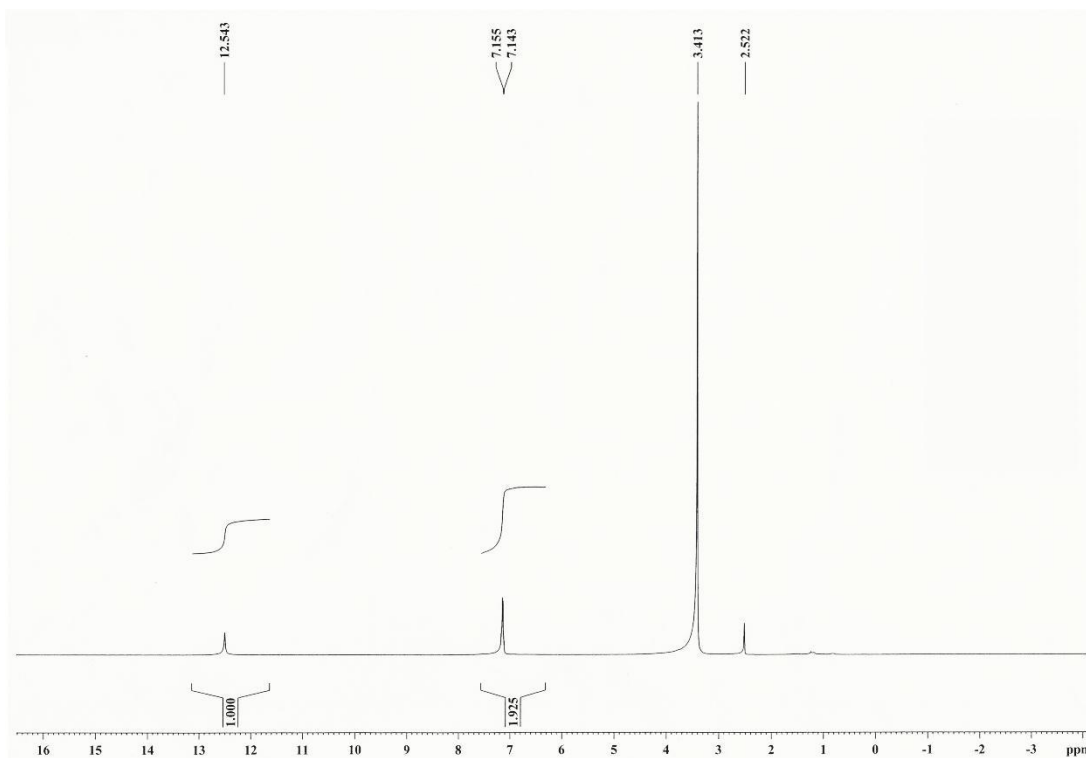
Anexos



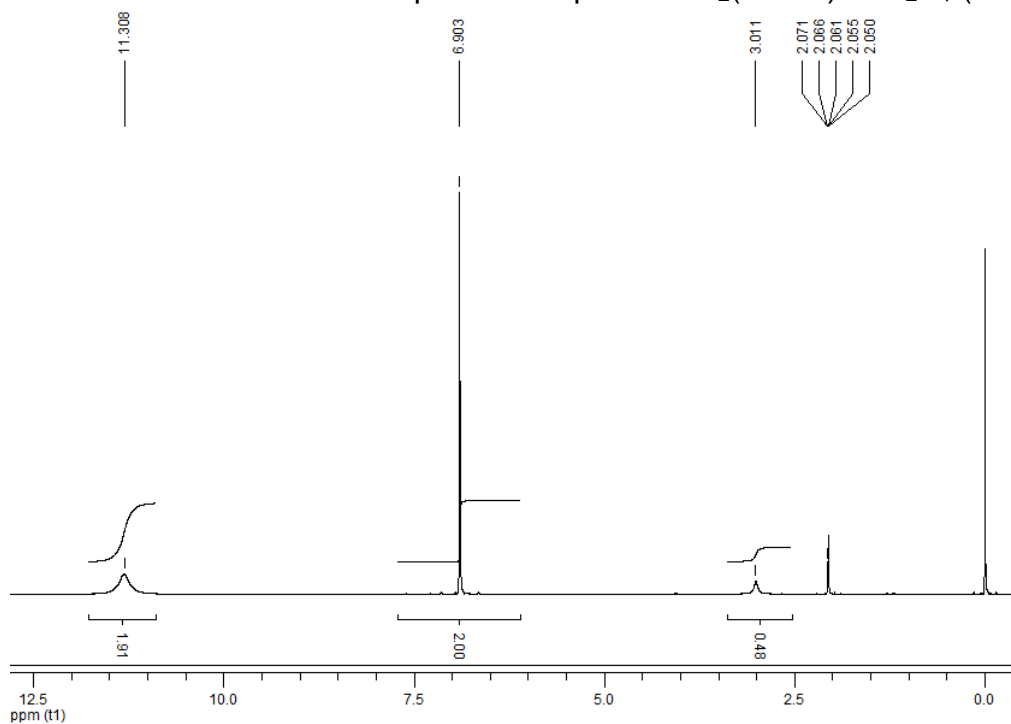
Espectro de ^1H RMN em DMSO para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.



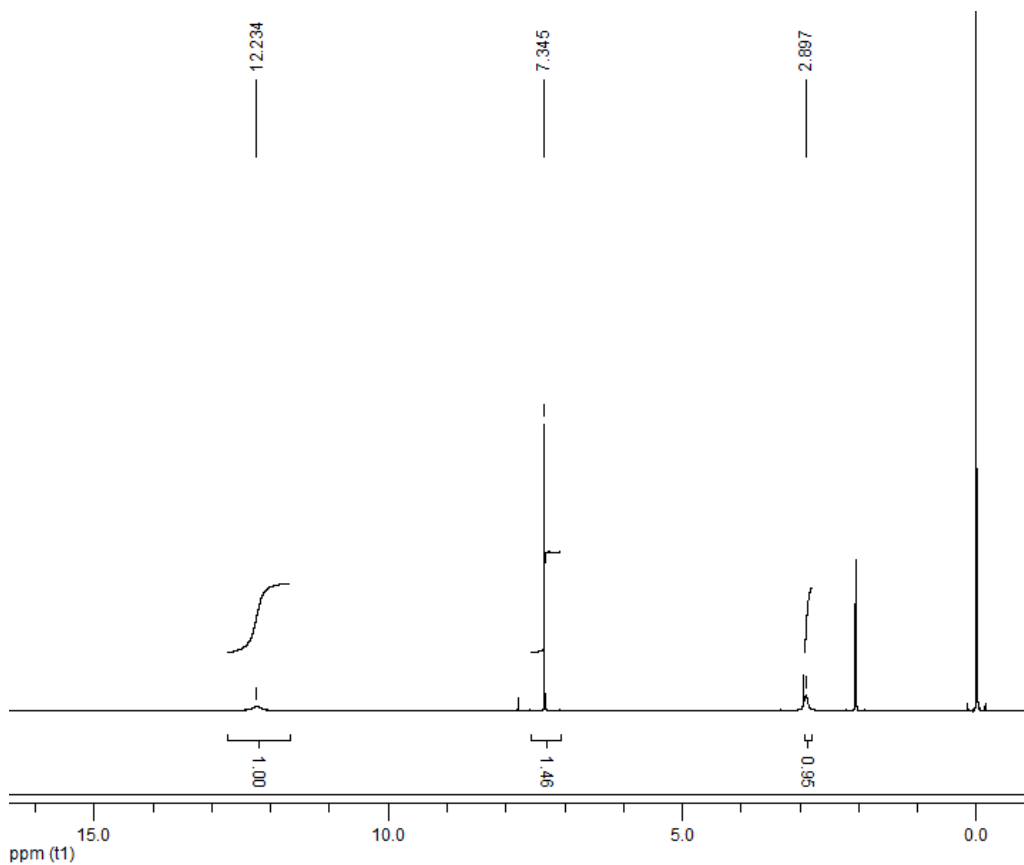
Espectro de ^1H RMN em DMSO para o ligante 2-mercapto-imidazol, Miz.



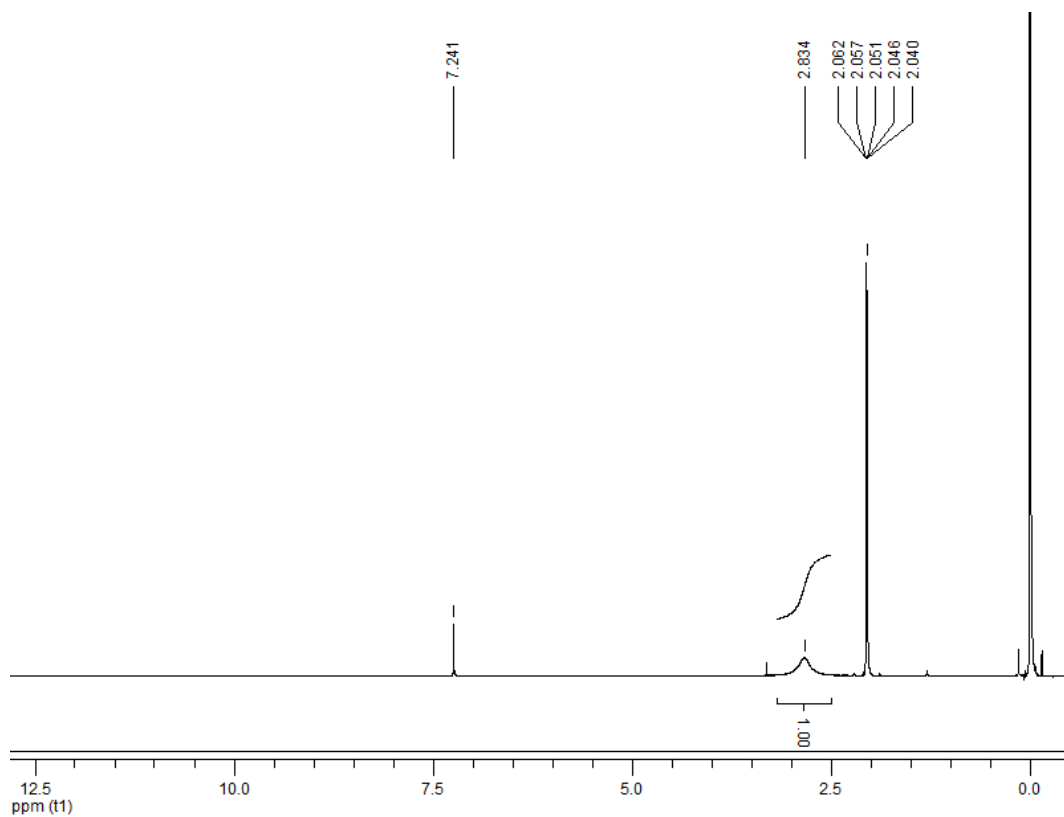
Espectro de ^1H RMN em DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).



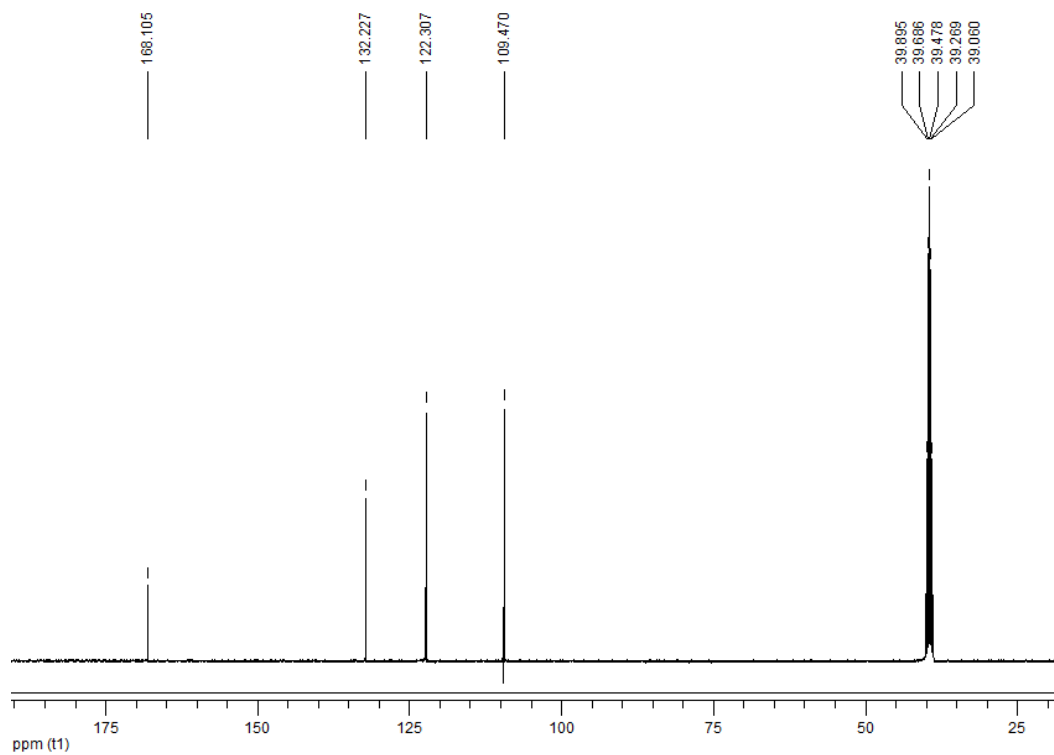
Espectro de ^1H RMN em acetona para 2-mercapto-imidazol, Miz.



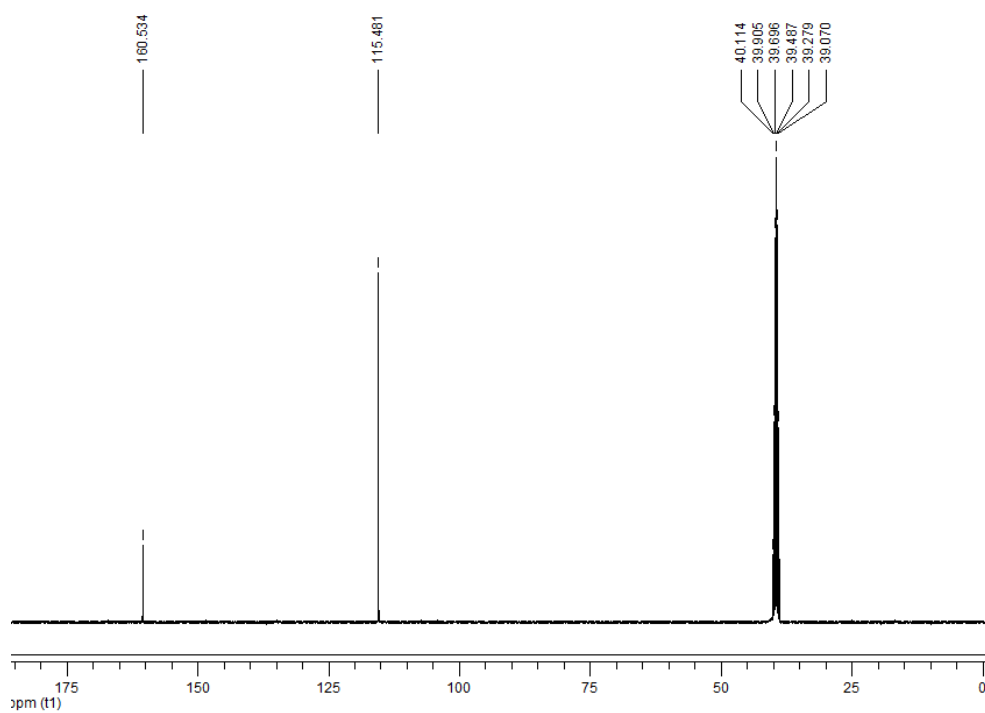
Espectro de ^1H RMN em acetona para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{Miz})$, (F4).



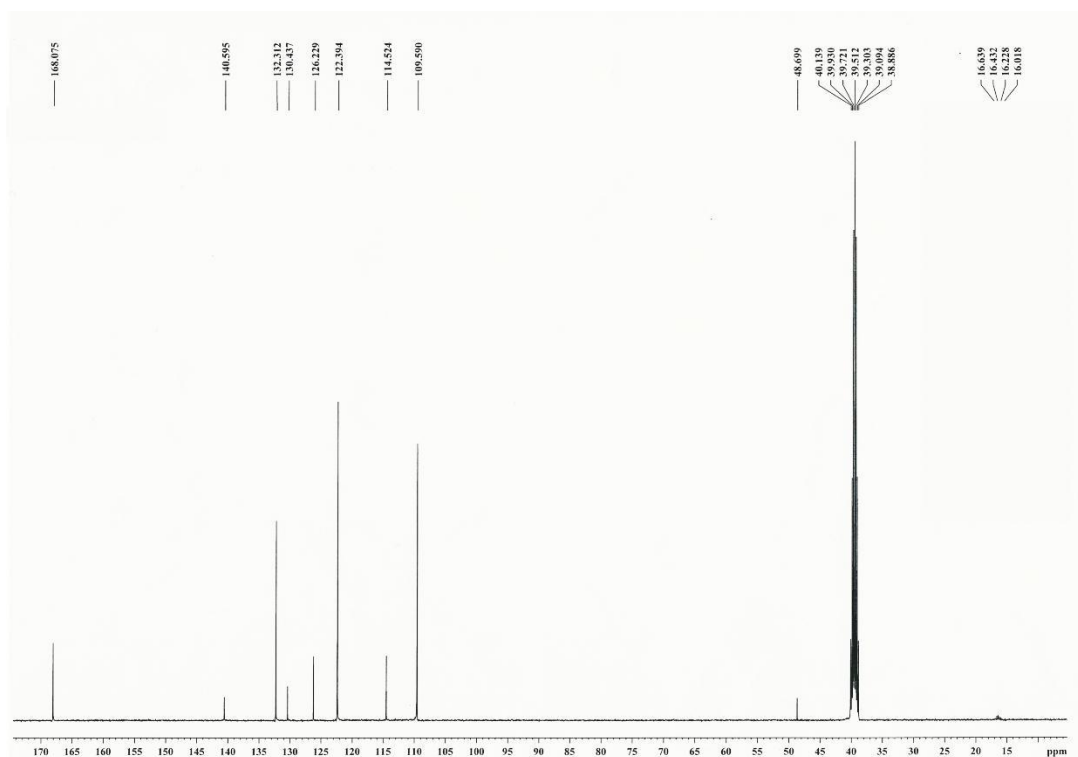
Espectro de ^1H RMN em acetona para $\text{BiCl}_2(\text{Miz})$, (B4).



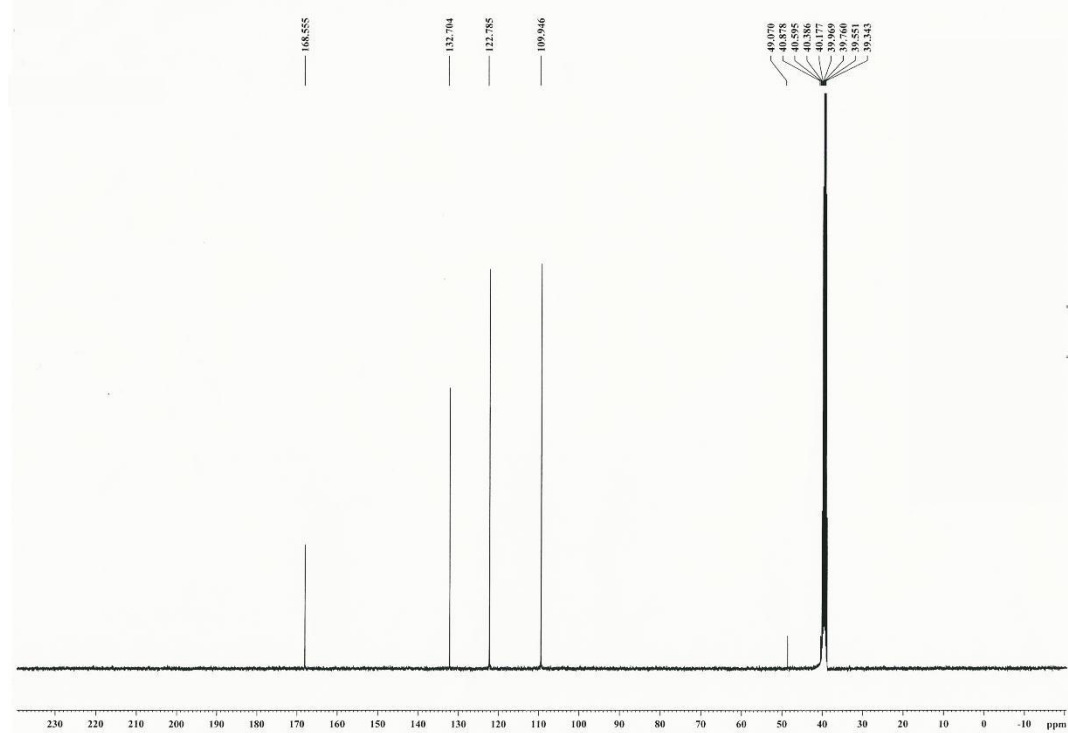
Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.



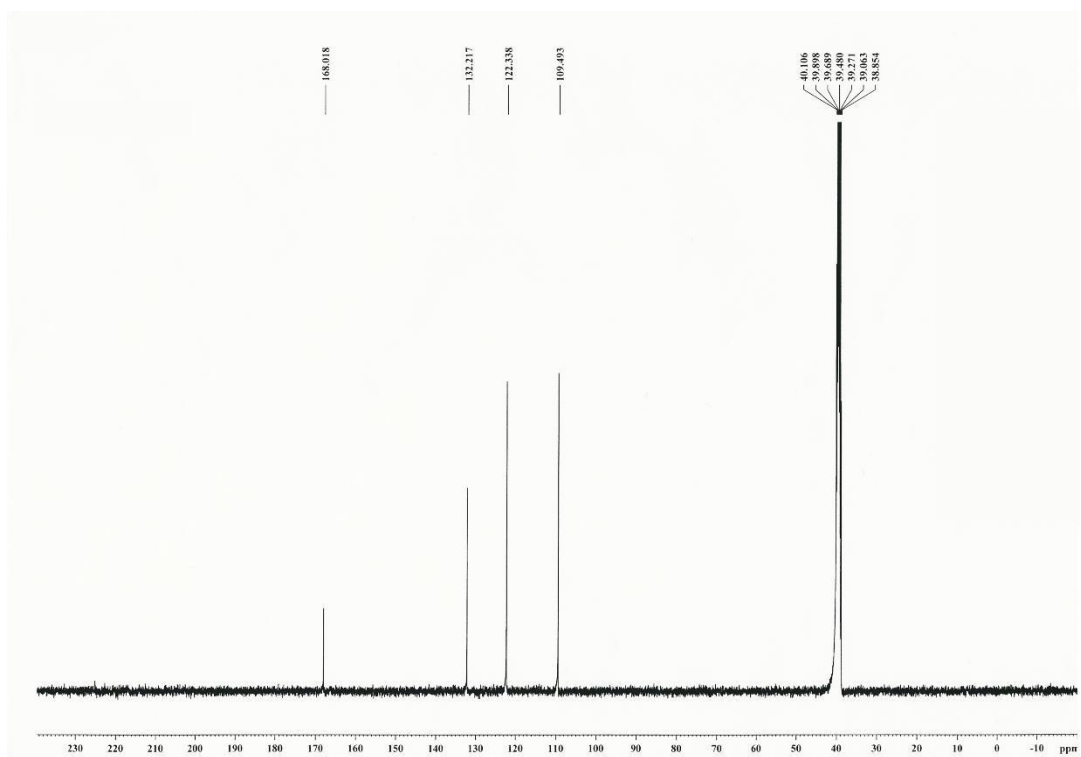
Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o ligante 2-mercapto-imidazol, Miz.



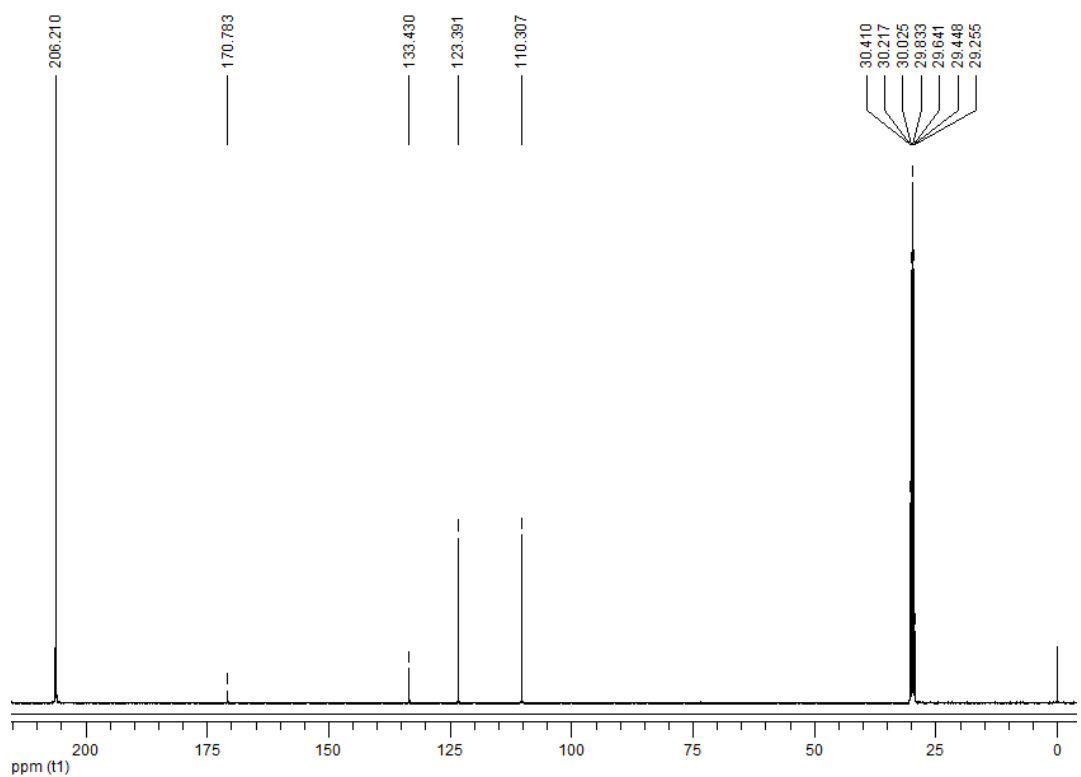
Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).



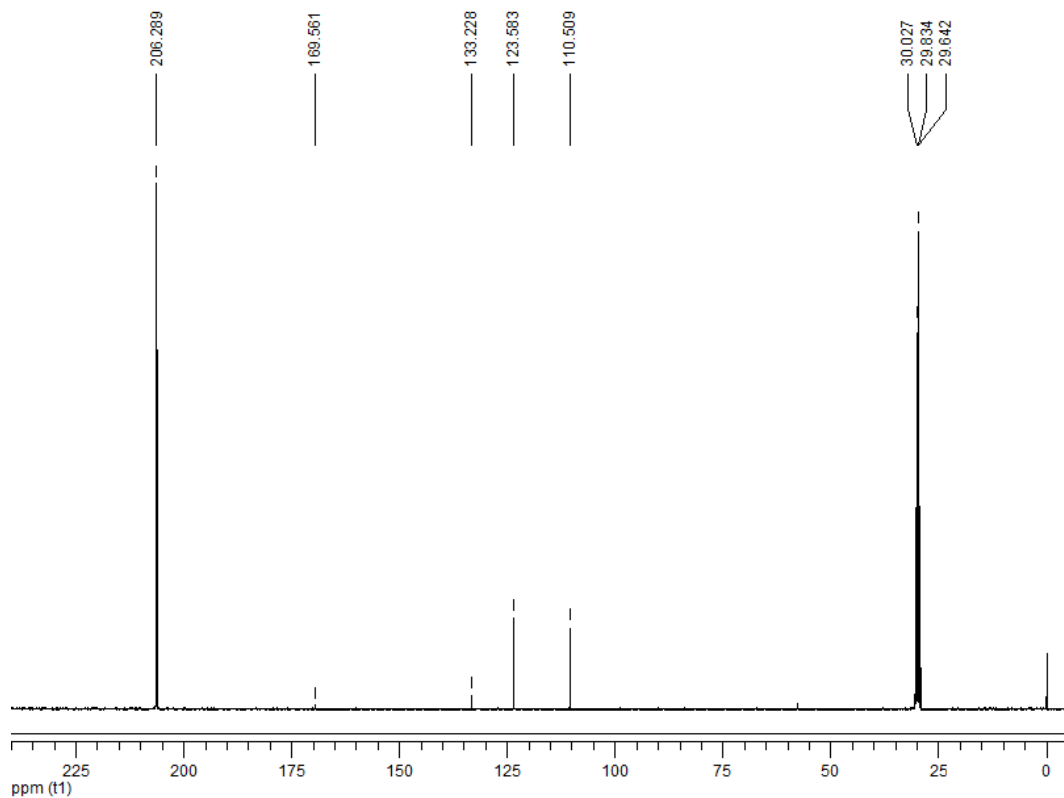
Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).



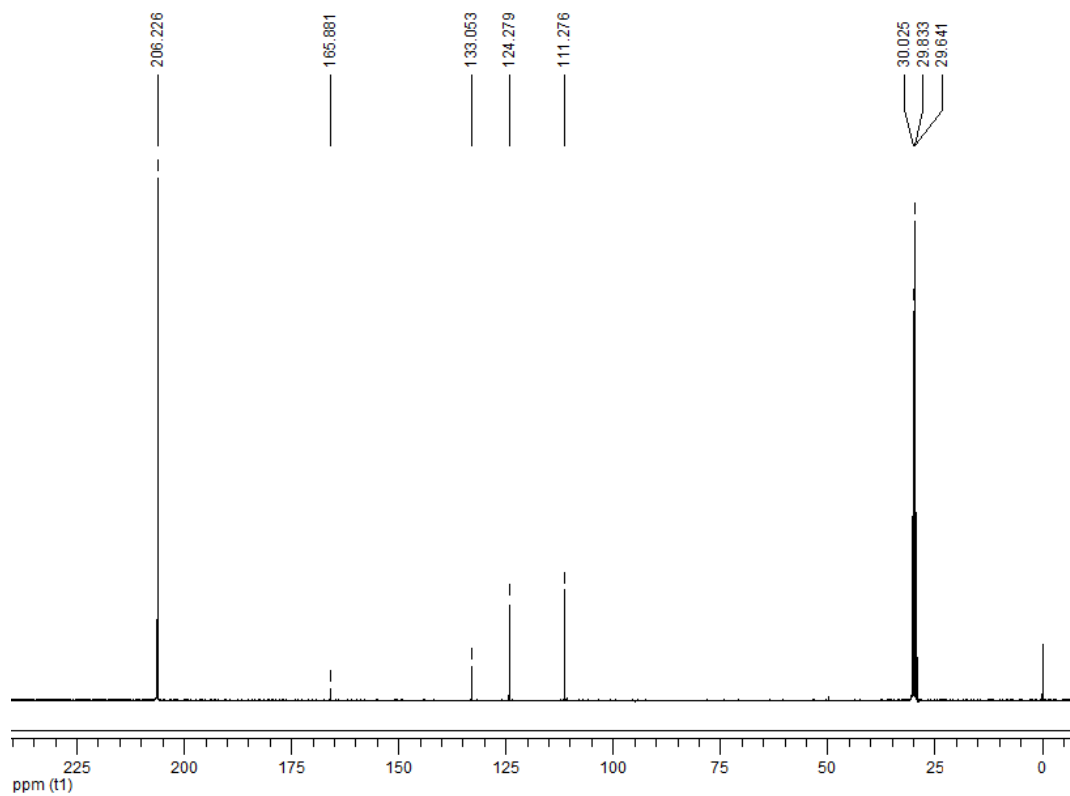
Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).



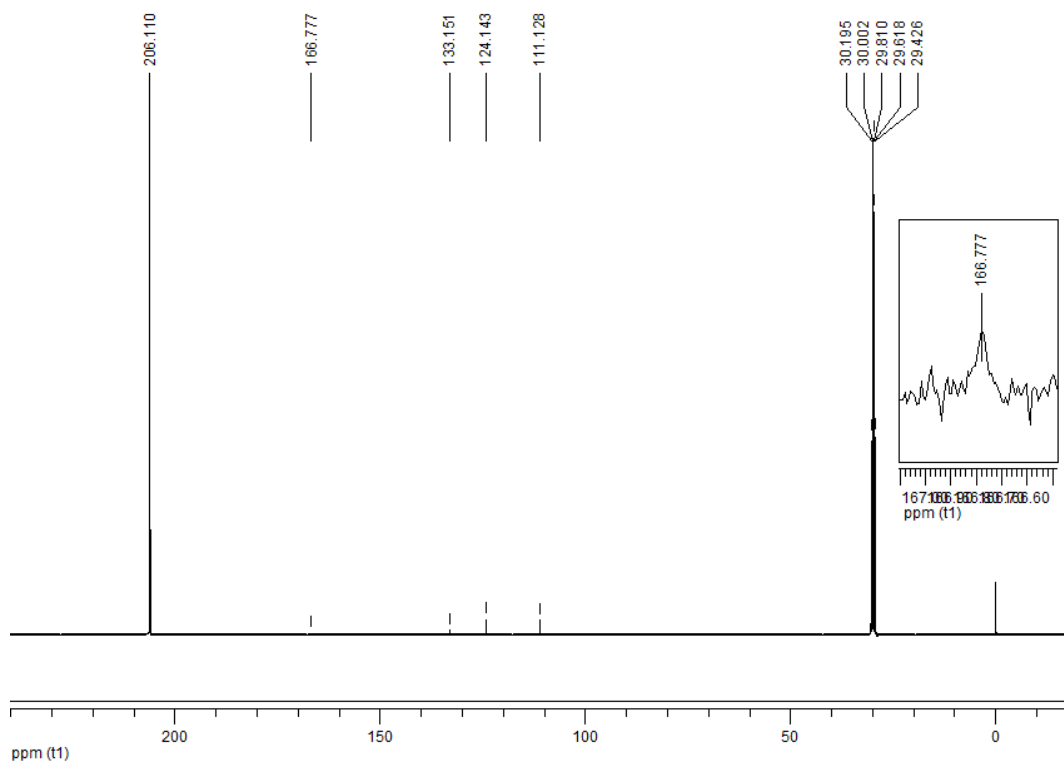
Espectro de ^{13}C RMN em acetona para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.



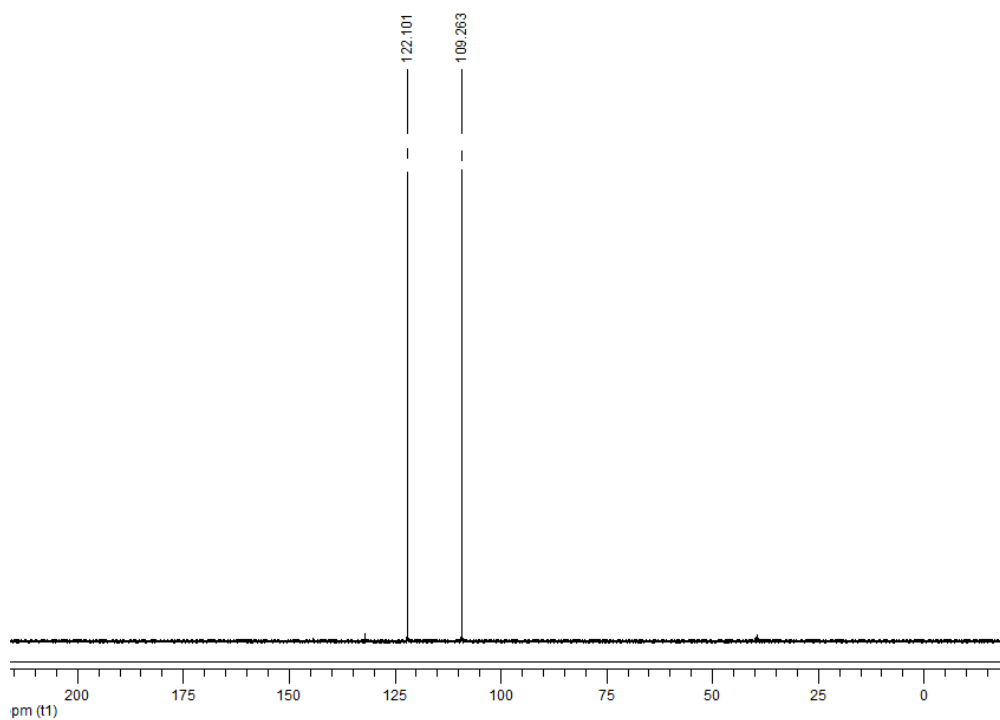
Espectro de ^{13}C RMN em acetona para o $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).



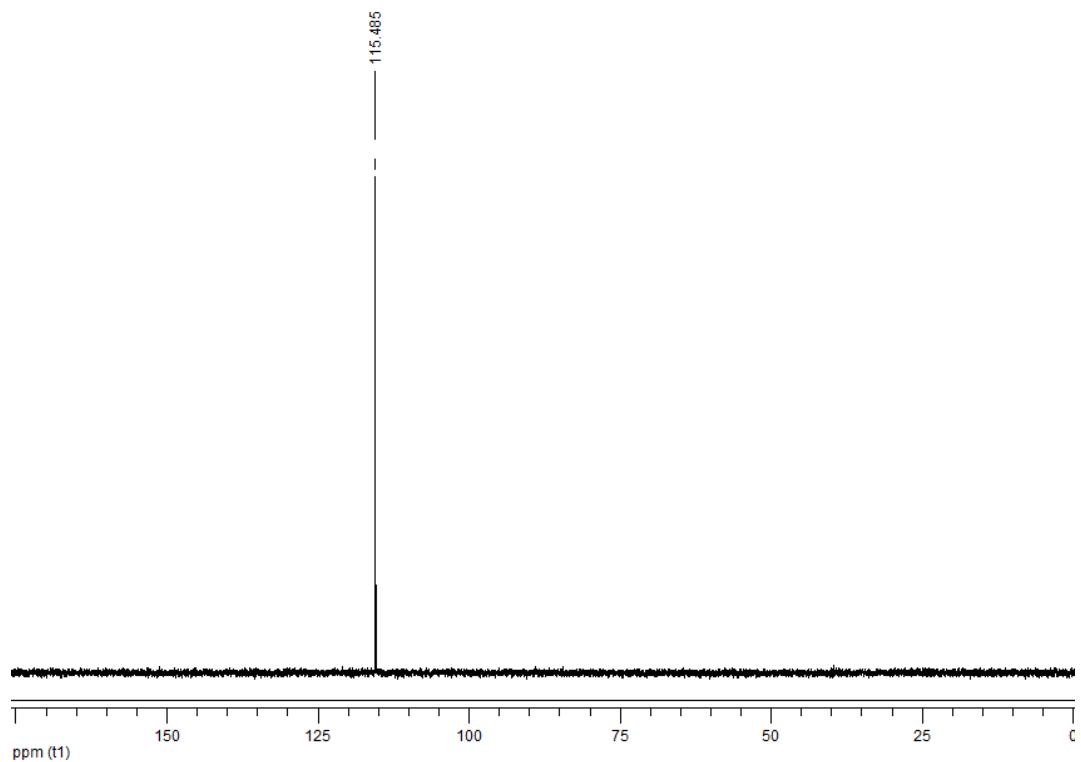
Espectro de ^{13}C RMN em acetona para o $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).



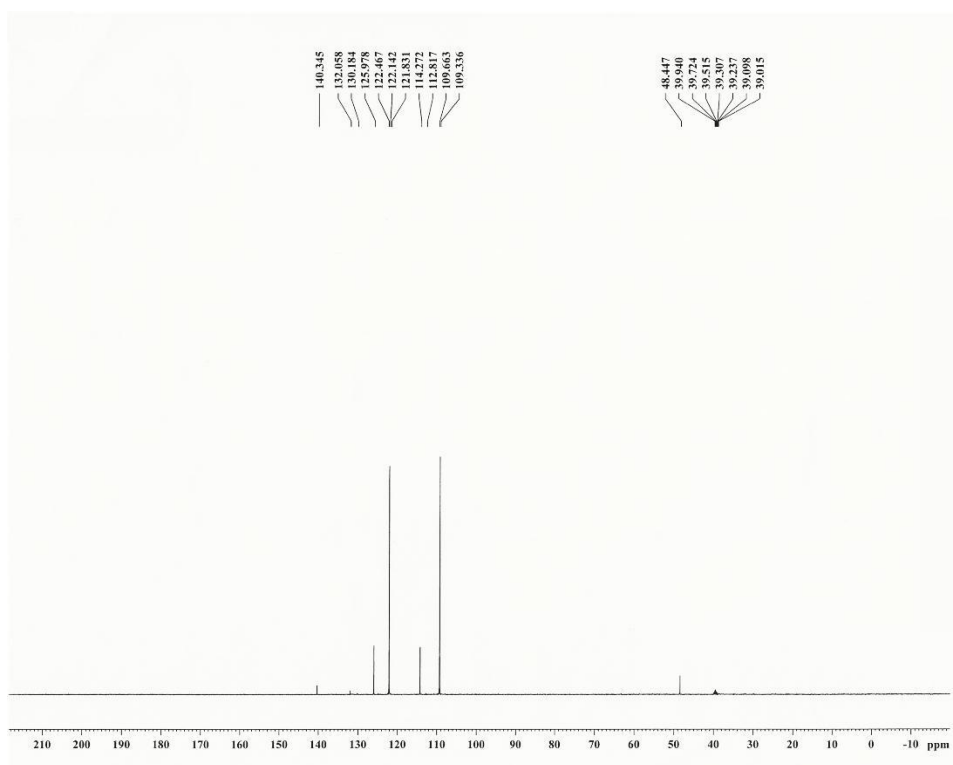
Espectro de ^{13}C RMN em acetona para o $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).



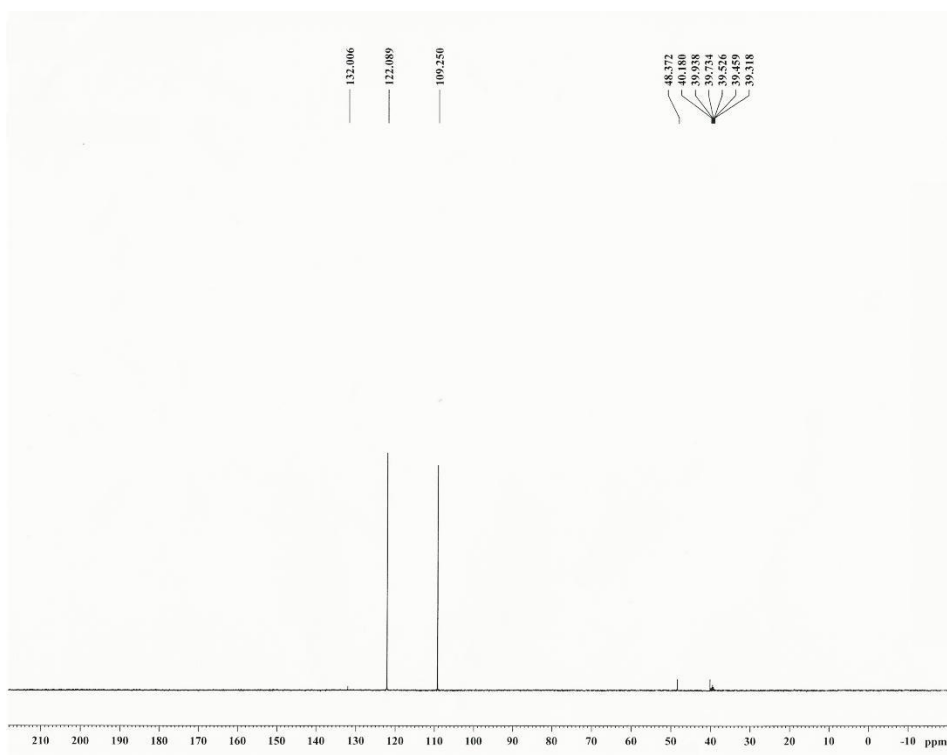
Espectro de DEPT 135 em DMSO para o ligante 2-mercapto-benzimidazol, Bzmiz.



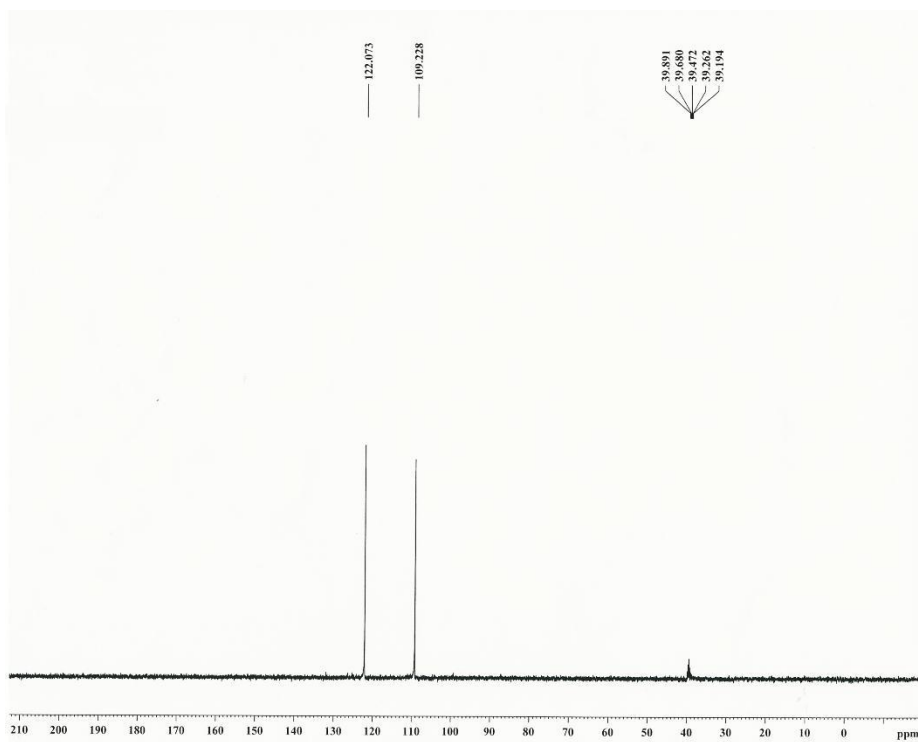
Espectro de DEPT 135 em DMSO para o ligante 2-mercaptopimidazol, Miz.



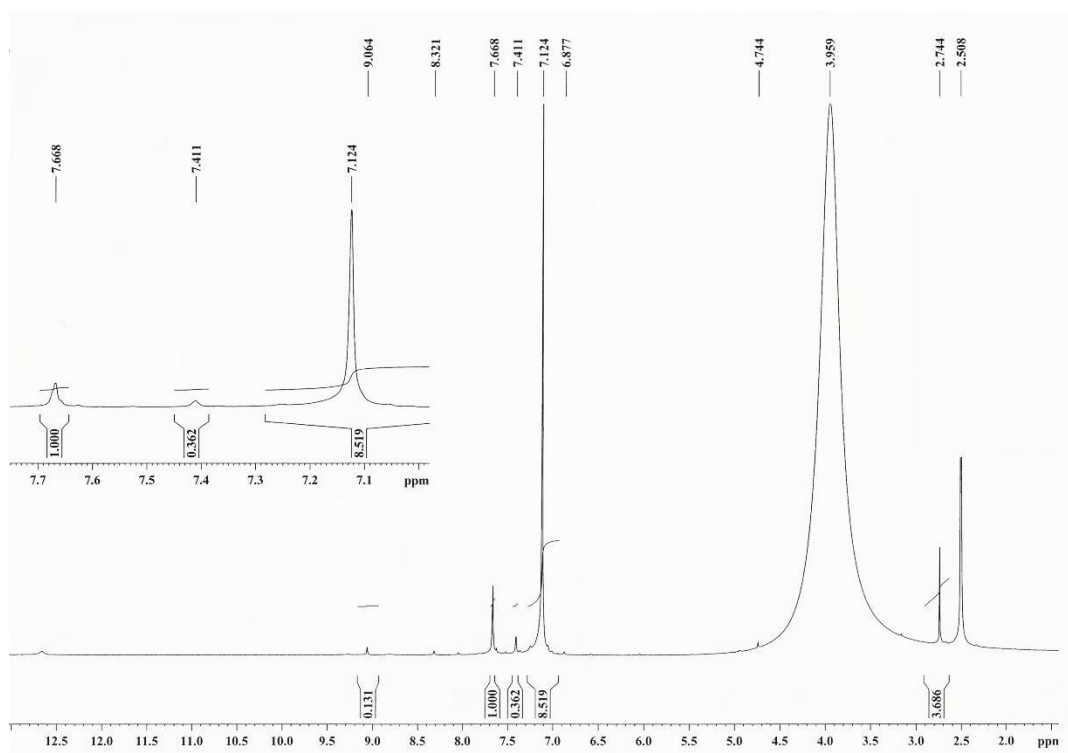
Espectro de DEPT 135 em DMSO para o complexo $\text{SbCl}(\text{Bzmiz})_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (F1).



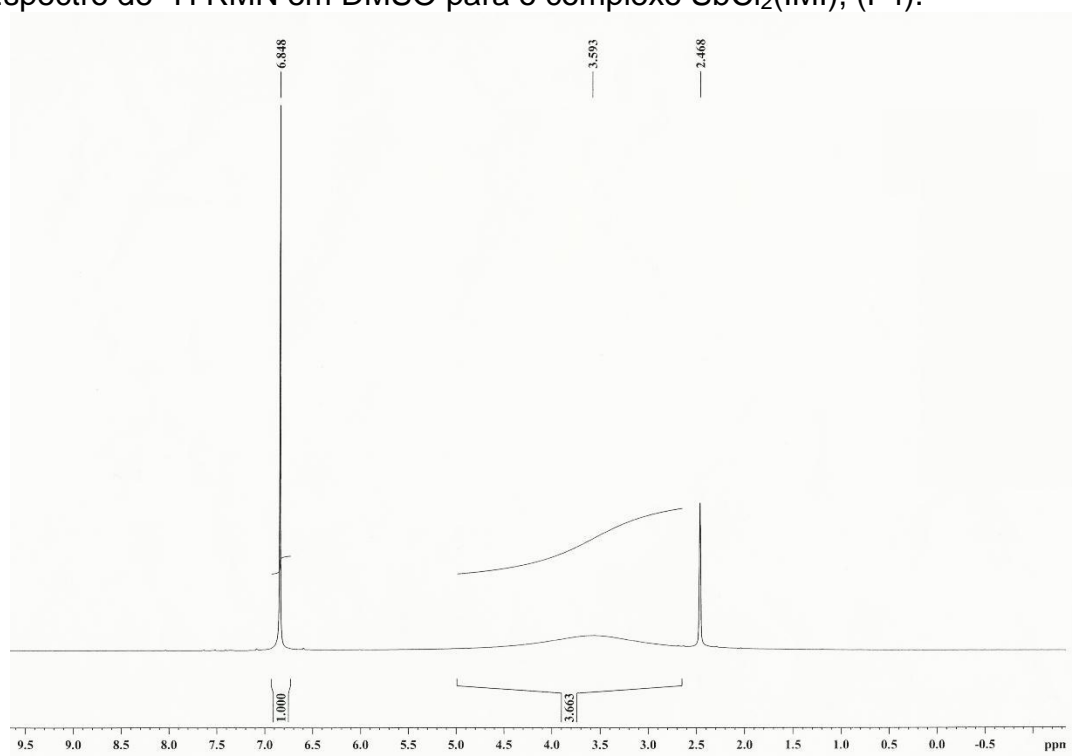
Espectro de DEPT 135 em DMSO para o complexo $\text{BiCl}(\text{Bzmiz}) \cdot \text{CH}_3\text{OH}$, (B1v).



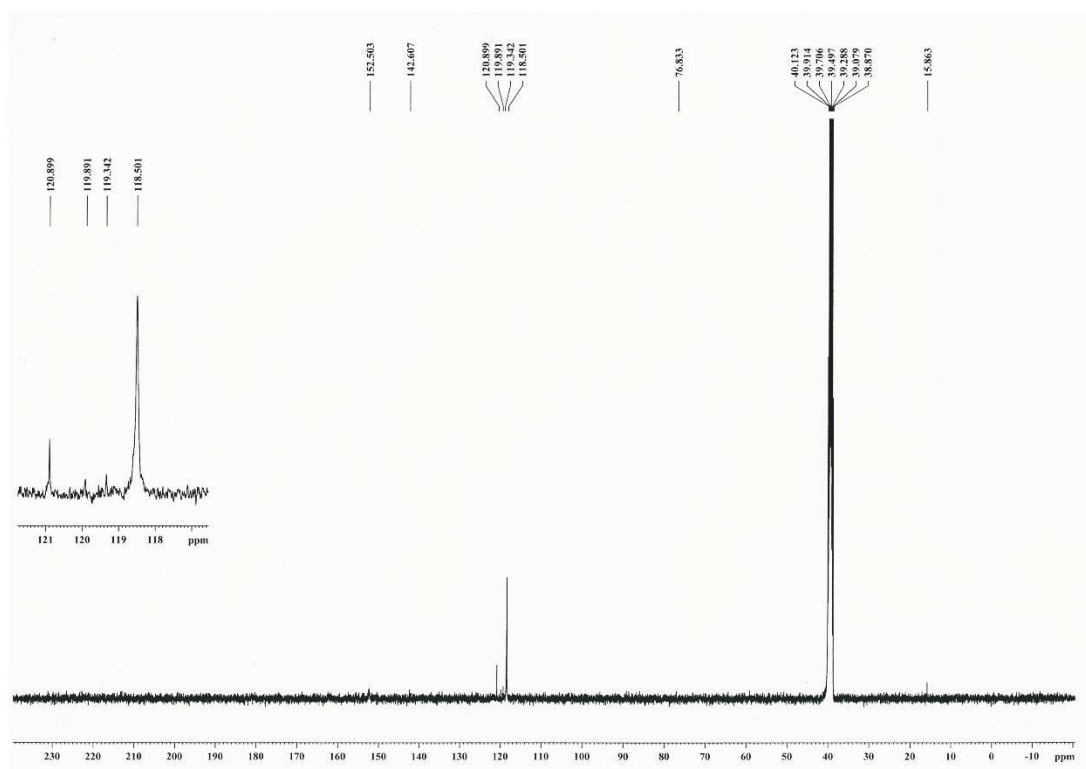
Espectro de DEPT 135 em DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{Bzmiz}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (B1a).



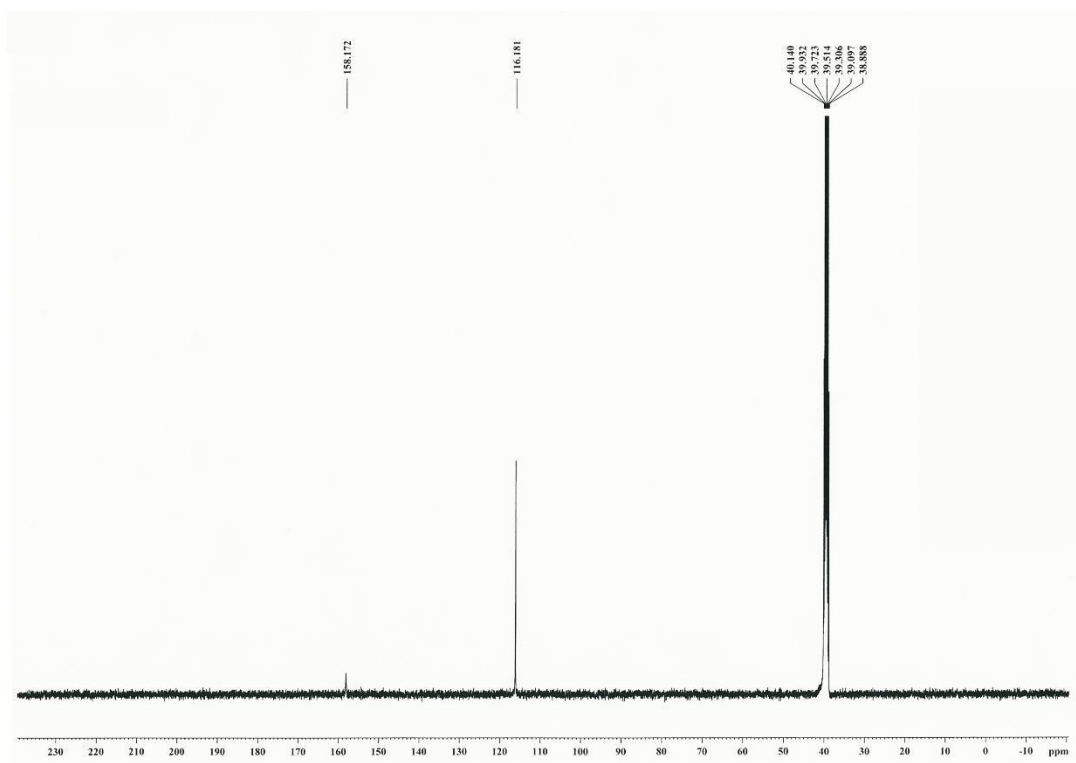
Espectro de ¹H RMN em DMSO para o complexo SbCl₂(IMI), (F4).



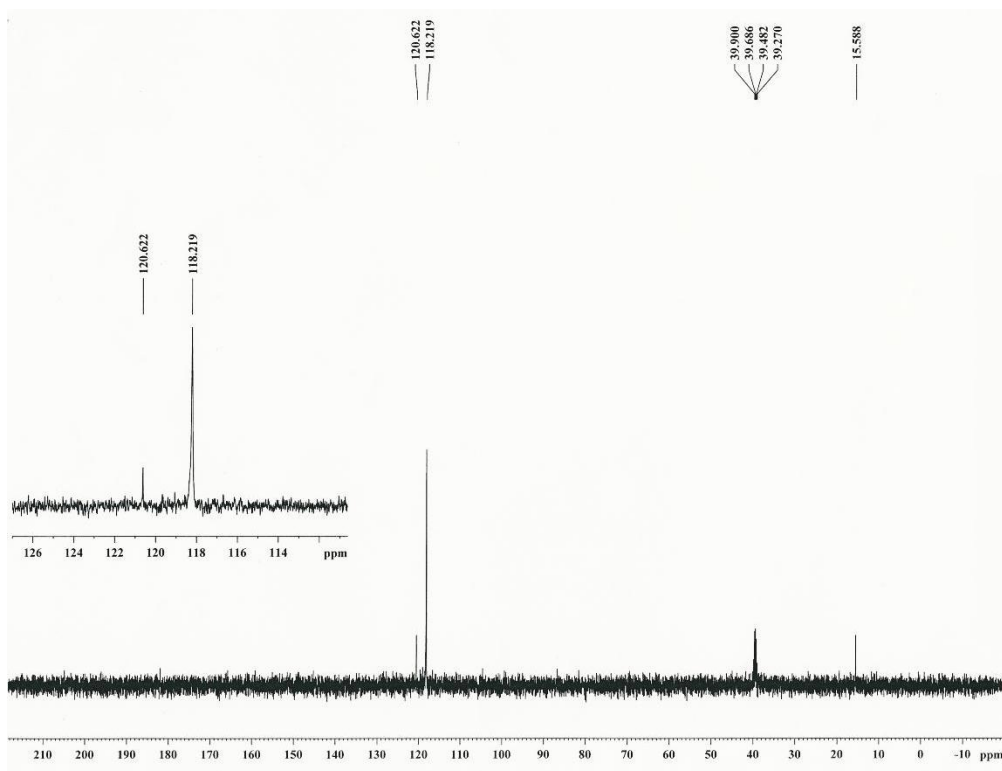
Espectro de ¹H RMN em DMSO para o complexo BiCl₂(IMI), (B4).



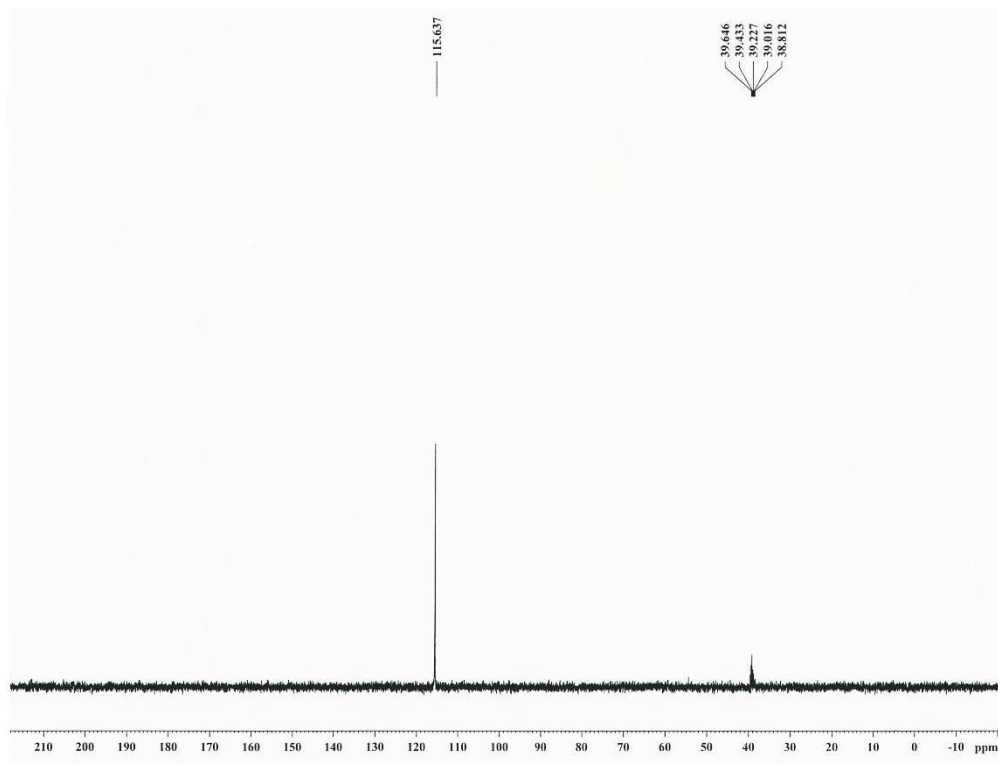
Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{IMI})$, (F4).



Espectro de ^{13}C RMN em DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{IMI})$, (B4).

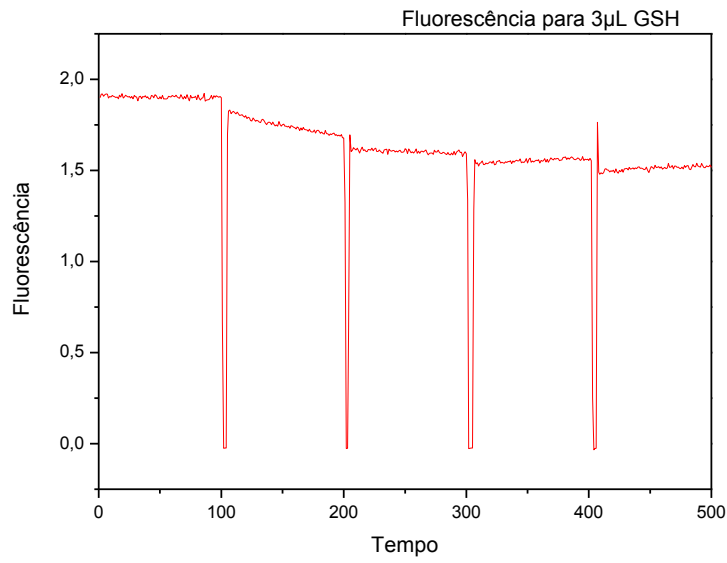


Espectro de DEPT 135 em DMSO para o complexo $\text{SbCl}_2(\text{IMI})$, (F4).

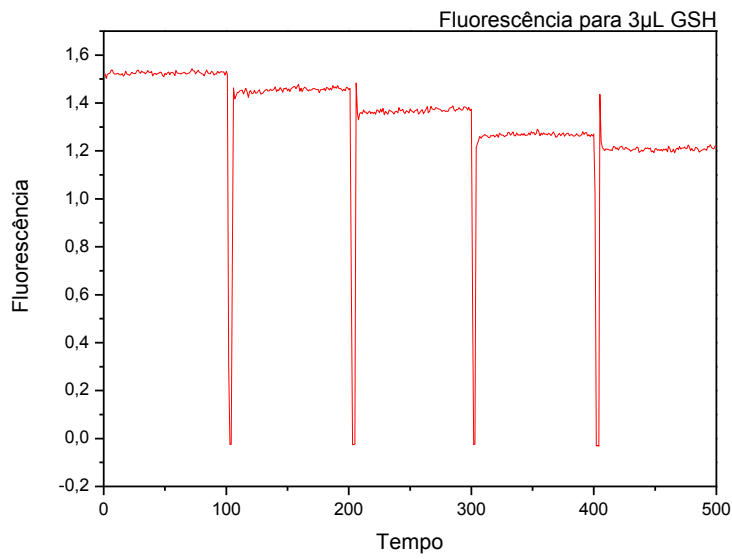


Espectro de DEPT 135 em DMSO para o complexo $\text{BiCl}_2(\text{IMI})$, (B4).

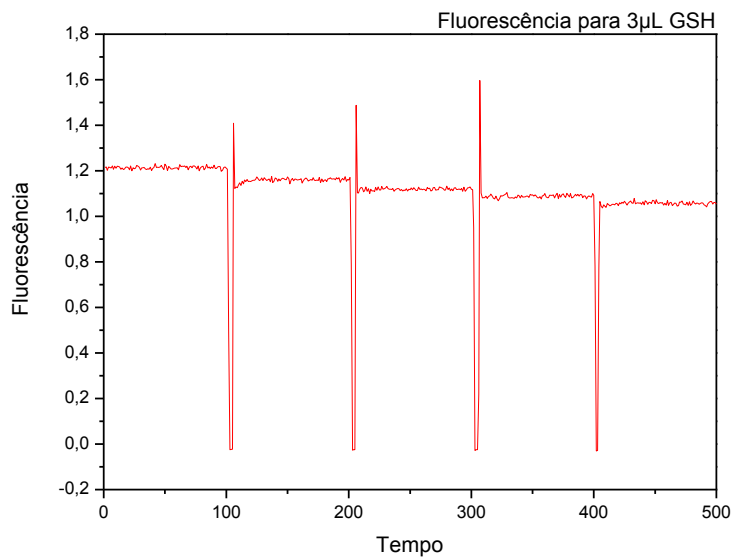
Espectros de fluorescência para o primeiro ensaio. 3 μ L de GSH e 30 μ L de GSH respectivamente.



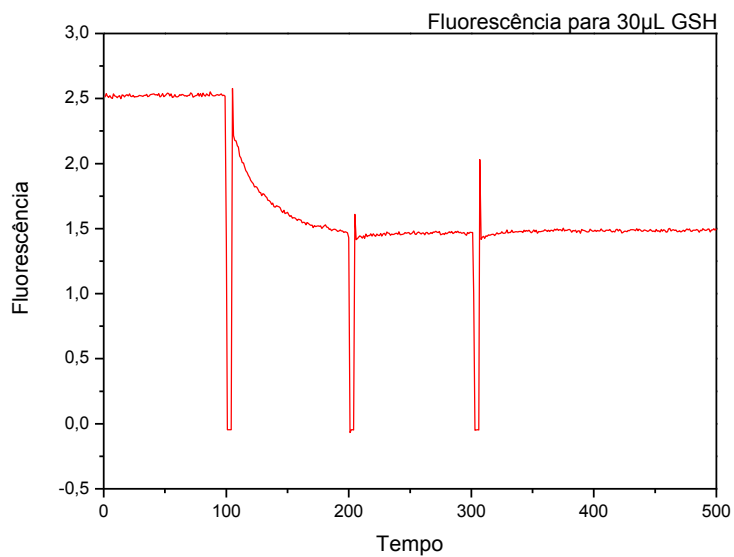
Espectro de Fluorescência (i) para 1^o Ensaio, 3 μ L de GSH.



Espectro de Fluorescência (ii) para 1^o Ensaio, 3 μ L de GSH.

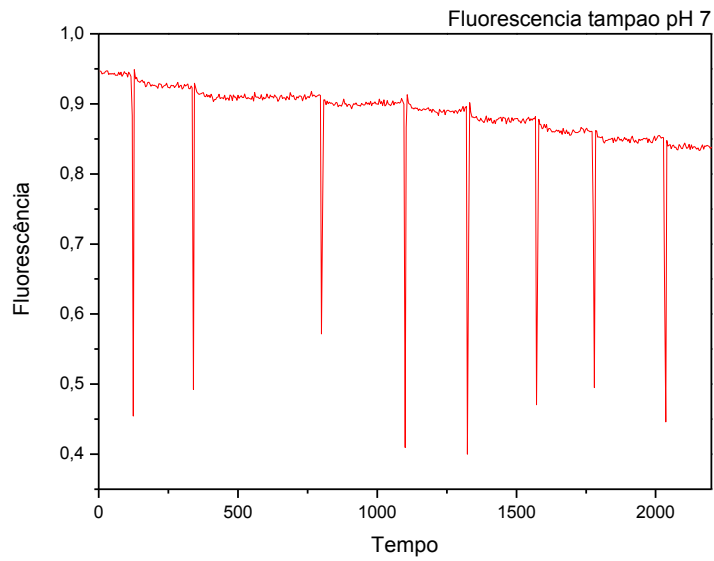


Espectro de Fluorescência (iii) para 1º Ensaio, 3µL de GSH.

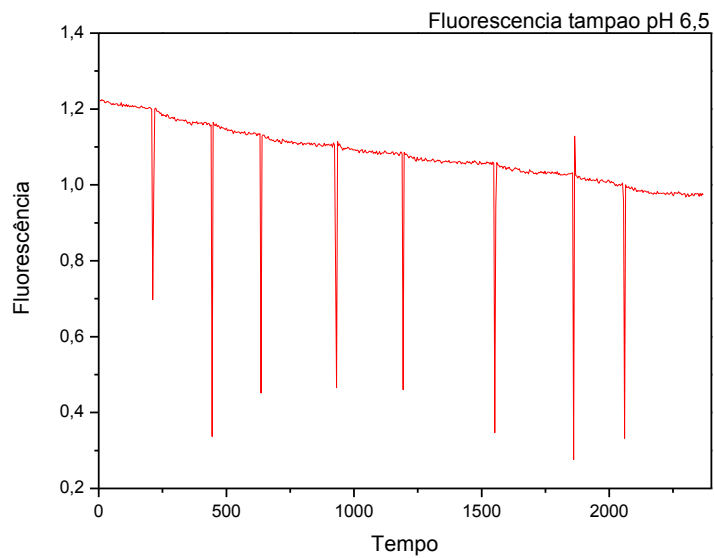


Espectro de Fluorescência (iv) para 1º Ensaio, 30µL de GSH.

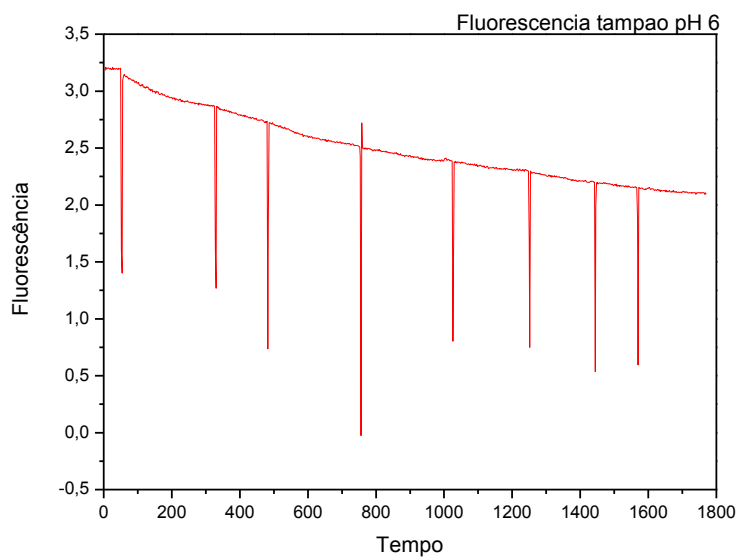
Espectros de fluorescência para o segundo ensaio. 30 μ L de GSH e pH 7; 6,5; 6 e 5,5 respectivamente.



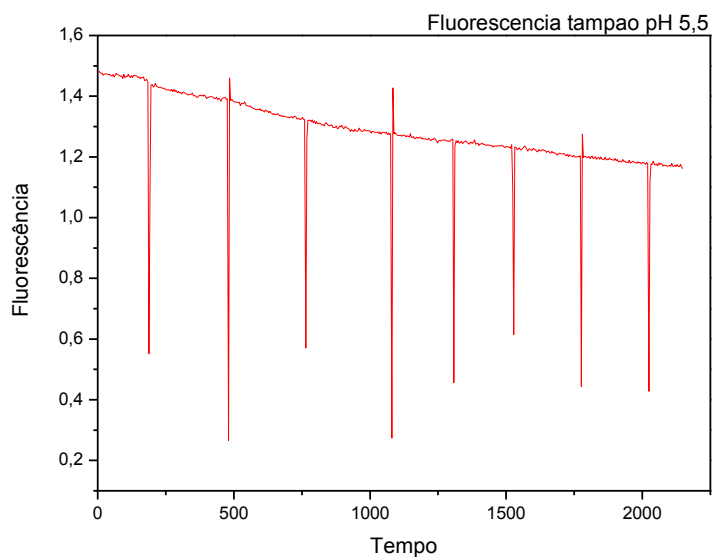
Espectro de Fluorescência (v) para 2^o Ensaio, 30 μ L de GSH e pH 7.



Espectro de Fluorescência (vi) para 2^o Ensaio, 30 μ L de GSH e pH6,5.

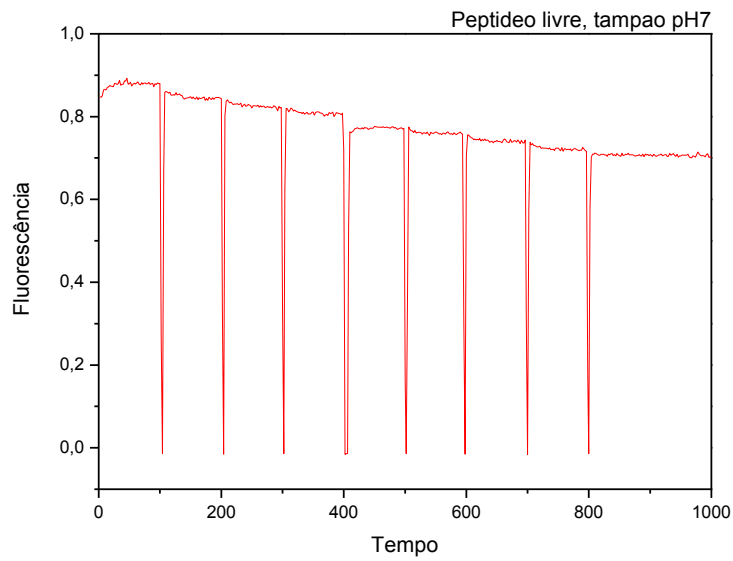


Espectro de Fluorescência (vii) para 2º Ensaio, 30µL de GSH e pH 6.

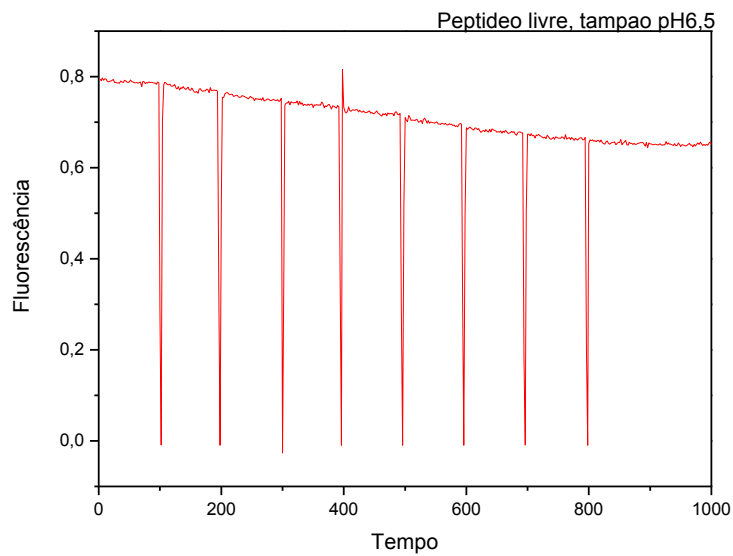


Espectro de Fluorescência (ix) para 2º Ensaio, 30µL de GSH e pH 5,5.

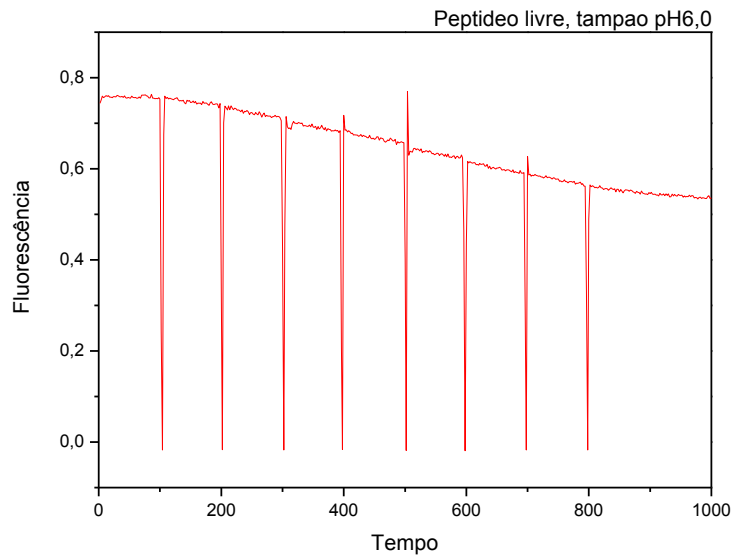
Espectros de fluorescência para o terceiro ensaio, peptídeo livre. 30µL de GSH e pH 7; 6,5; 6 e 5,5 respectivamente.



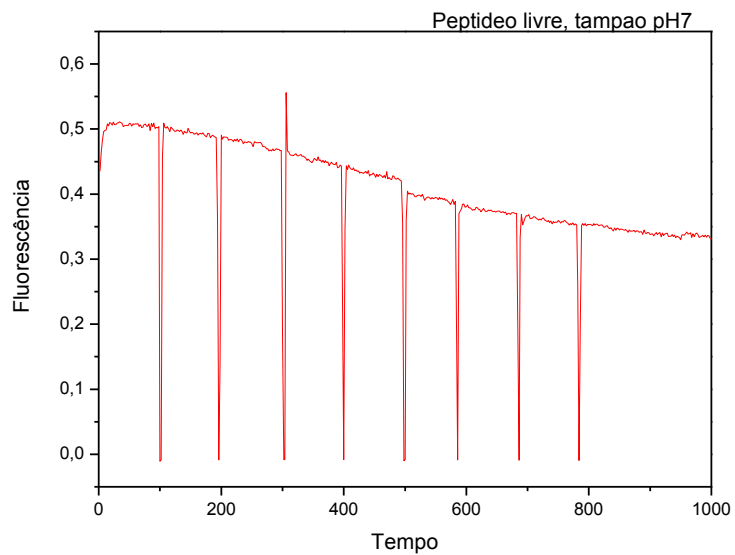
Espectro de Fluorescência (x) para 3º Ensaio, 30µL de GSH e pH 7.



Espectro de Fluorescência (xi) para 3º Ensaio, 30µL de GSH e pH 6,5.

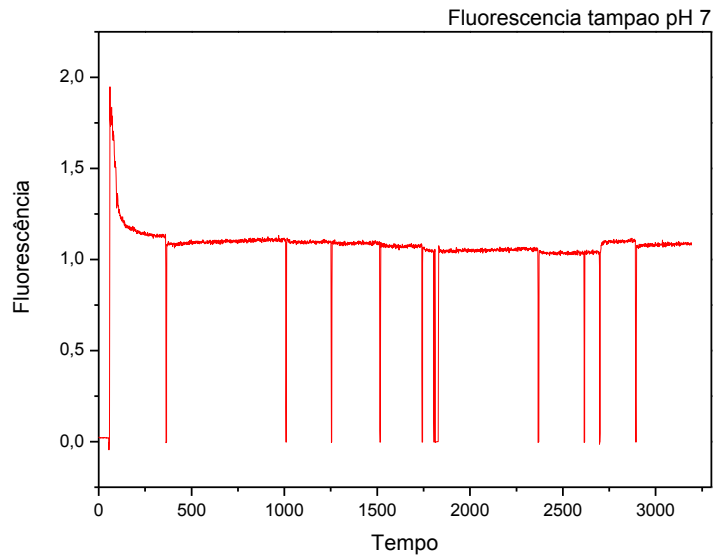


Espectro de Fluorescência (xii) para 3^o Ensaio, 30 μ L de GSH e pH 6.

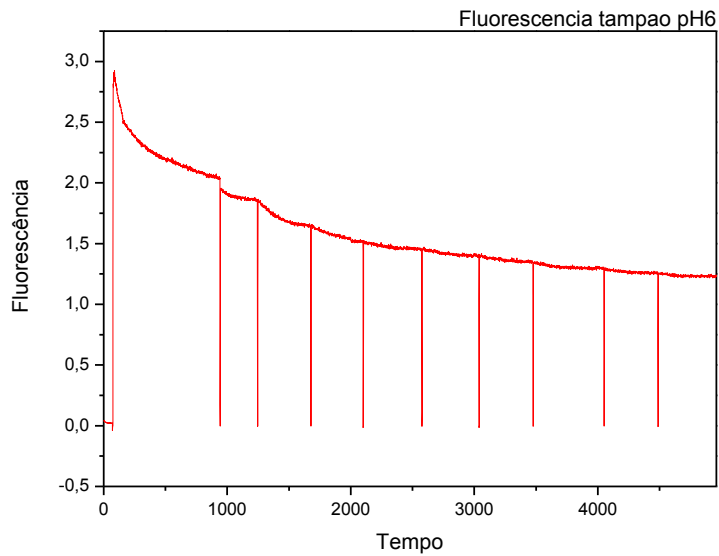


Espectro de Fluorescência (xiii) para 3^o Ensaio, 30 μ L de GSH e pH 5,5.

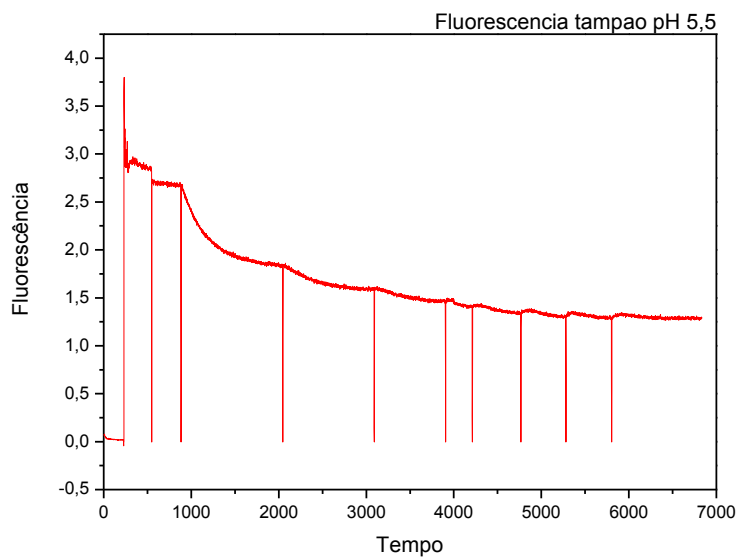
Espectros de fluorescência para o quarto ensaio, adição de ZnF e GSH não simultâneas. 30 μ L de GSH e pH 7; 6,5; 6 e 5,5 respectivamente.



Espectro de Fluorescência (xiv) para 4^o Ensaio, 30 μ L de GSH e pH 7.



Espectro de Fluorescência (xv) para 4^o Ensaio, 30 μ L de GSH e pH 6.



Espectro de Fluorescência (xvi) para 4º Ensaio, 30µL de GSH e pH 5,5.

Trabalhos apresentados em congressos:

Pereira, F. A. ; Demicheli, C. P. ; Frézard, F. ; Farrel, N. . INTERACTION OF TRIVALENT ARSENIUM AND GLUTATHIONE WITH A CCHC ZINC FINGER DOMAIN, **2010**, Angra dos Reis. XV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry, 2010.